

Université de Montréal

**EFFETS DE L'ALCOOLISME FŒTAL SUR LE
DÉVELOPPEMENT DU CORPS GENOUILLÉ LATÉRAL
DU SINGE**

Présenté par :

Marc Papia

École d'optométrie

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures en vue de
l'obtention d'un grade de maîtrise en sciences de la vision,
option recherche fondamentale

17 novembre, 2009

© Marc Papia, 2009

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée :

Effets de l'alcoolisme fœtal sur le développement du corps genouillé latéral du singe

présenté par :
Marc Papia

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Dr Christian Casanova, président-rapporteur
Dr Maurice Ptito, directeur de recherche
Dr Jean-François Bouchard, examinateur

Résumé

L'exposition du fœtus à l'éthanol est reconnue comme étant la principale cause de maladies évitables lors du développement. Une forte exposition à l'alcool durant la gestation peut occasionner des dysmorphies cranio-faciales et des retards mentaux, ainsi que des troubles d'apprentissages et du comportement. Le développement du système visuel est également perturbé chez une grande majorité d'enfants qui ont été exposés à l'alcool. Lorsque les doses prises sont élevées, le système visuel peut présenter une panoplie de symptômes comme une augmentation de la tortuosité des vaisseaux rétiniens, de la myopie, de l'hypermétropie, du strabisme et une hypoplasie du nerf optique. Cependant, très peu d'études se sont penchées sur les effets de plus faibles doses sur le développement du système visuel du primate. Le singe est un excellent modèle pour étudier le système visuel car il possède plusieurs similitudes avec l'humain tant au niveau développemental qu'au niveau structurel. De plus, le singe utilisé, le *Chlorocebus aethiops sabeus*, possède l'avantage que des individus de cette espèce ont une consommation naturelle et volontaire à l'alcool. Une étude (Clarren *et al.*, 1990) a suggéré qu'une faible exposition à l'alcool du fœtus du primate non humain occasionnait une diminution du nombre de cellules ganglionnaires de la rétine (CGRs). Étant donné que le corps genouillé latéral dorsal (CGLd) reçoit la plupart de ses intrants de la rétine, il est raisonnable d'assumer que les couches rétino-réceptives du CGLd devraient être aussi affectées. Nous avons alors émis l'hypothèse que le CGLd devrait également subir une diminution du nombre de neurones. Pour la première fois, nous avons utilisé une méthode stéréologique pour quantifier le nombre de cellules dans les couches parvo- (P) et magnocellulaires (M) du CGLd. Contrairement à notre hypothèse de départ, nous n'avons pas observé de diminution dans le nombre global de neurones dans le CGLd des animaux exposés à l'alcool par rapport à des sujets contrôles, ni une diminution de son volume. Nous avons toutefois observé une diminution de la taille du corps cellulaire seulement dans la population M du CGLd. Ces résultats suggèrent que le système visuel est affecté par une faible exposition à l'alcool durant son développement qui devrait se traduire sur le comportement par des déficits dans les fonctions de la voie M.

Mots-clés: CGLd, vision, FAS, FASD, développement, stéréologie, singe.

Abstract

An alcohol exposition during the gestation is recognized as the leading causes of preventable developmental disorders. A heavy exposure to ethanol can lead to a litany of symptoms ranging from cranio-facial dysmorphology and mental retardation to developmental learning and behavioural disorders. The visual system development is also the target for a high percentage of children exposed prenatally to alcohol. When the concentrations are relatively high, the visual system can show signs of increased tortuosity of the retina vessels, myopia, hyperopia, strabismus and hypoplasia of the optic nerve. Few studies have examined the effects of a moderate exposure to alcohol on the development of the primate visual system. The monkey is an excellent model to study the visual system because this model owns a lot of similarities with human at the developmental and structural levels. Moreover, the monkey used for this study, *Chlorocebus sabaeus*, naturally and voluntarily consumes alcohol. One study (Clarren *et al.*, 1990) suggested that a low dose exposure of alcohol induce a diminution of neurons in the ganglion retinal cell population. But, no information is given about the numbers and the cell population of neurons. We hypothesized that the lateral geniculate nucleus (LGN) should show a decrease in the number of neurons after moderate prenatal exposure to alcohol. The LGN is a key region because it is situated between the region that receives visual information, the retina, and the first visual region that analyzes the visual information, the primary visual cortex (V1). We utilized a stereological method to study the effects of moderate doses of alcohol on the neuronal population of the LGN in the non-human primate. In opposition to our hypothesis, we have not observed any diminution in the number of neurons or the volume of the LGN. However, we have found a diminution in the neuronal volume of only the magnocellular (M) region. These results suggest that the visual system is affected by a low dose of alcohol that should translate into deficits in the functions of the M pathway.

Keywords: LGN, vision, FAS, FASD, development, stereology, monkey.

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	iv
Table des matières	v
Liste des tableaux	vii
Liste des figures	viii
Liste des abréviations	ix
Remerciements	xi
1. Introduction	2
1.1 Préambule	2
1.2 Le vervet	3
1.3 Organisation anatomo-fonctionnelle du système visuel	7
<i>1.3.1 La rétine</i>	<i>7</i>
<i>1.3.1.1 Les cellules ganglionnaires de la rétine</i>	<i>9</i>
<i>1.3.1.1.1 Parasols et midgets</i>	<i>9</i>
<i>1.3.1.1.2 Les cellules ganglionnaires bistratifiées</i>	<i>11</i>
<i>1.3.2 Le corps genouillé latéral dorsal</i>	<i>11</i>
<i>1.3.2.1 Les couches magnocellulaires</i>	<i>11</i>
<i>1.3.2.2 Les couches parvocellulaires</i>	<i>13</i>
<i>1.3.2.3 Les inter-couches koniocellulaires</i>	<i>13</i>
<i>1.3.3 L'aire visuelle primaire et secondaire</i>	<i>14</i>
<i>1.3.4 Les aires supérieures</i>	<i>16</i>
<i>1.3.4.2 La voie ventrale</i>	<i>19</i>
1.4 Développement anatomique du système visuel	20
<i>1.4.1 Développement de l'œil et de la rétine</i>	<i>20</i>
<i>1.4.2 Développement du corps genouillé latéral</i>	<i>22</i>
<i>1.4.3 Développement de l'aire visuelle primaire</i>	<i>26</i>
<i>1.4.4 Chronologie du développement entre les régions du système visuel</i>	<i>29</i>
1.5 Le syndrome de l'alcoolisme fœtal	33
<i>1.5.1 Les effets sur le système visuel</i>	<i>33</i>
1.6 But de notre étude	34
2. Article	36
2.1 Abstract	37
2.2 Introduction	37
2.3 Materials and methods	39
2.4 Results	42
2.5 Discussion	44
2.6 Conclusion	48

2.7 References	48
2.8 Table and figures	54
3. Discussion.....	60
3.1 Considérations méthodologiques	60
3.1.1 <i>Stéréologie</i>	60
3.2 Effets sur le développement anatomique du système visuel	61
3.2.1 <i>L'œil et la rétine.....</i>	61
3.2.2 <i>Le corps genouillé latéral dorsal</i>	62
3.2.2.1 <i>Le nombre de neurones</i>	62
3.2.2.2 <i>Le volume des neurones</i>	64
3.2.2.3 <i>Le nombre de synapses et la morphologie dendritique des neurones.....</i>	64
3.2.3 <i>Les récepteurs endocannabinoïdes</i>	65
3.2.4 <i>Le cortex visuel primaire</i>	65
3.2.5 <i>Les aires supérieures</i>	66
3.3 Effets sur les fonctions du système visuel.....	67
3.3.1 <i>La rétine.....</i>	67
3.3.3 <i>Le cortex visuel primaire</i>	71
3.3.4 <i>Les aires supérieures</i>	71
3.3.5 <i>Comparaison avec la dyslexie de développement</i>	72
4. Conclusion.....	74
5. Bibliographie (Introduction et Discussion).....	75

Liste des tableaux

1. Introduction	Page
Tableau 1. Chronologie des évènements du développement du système visuel observés ou prédit chez l'humain et le macaque rhésus	31
2. Article	
Table 1. Subject profile	54

Liste des figures

1. Introduction	Page
Figure 1. Arbre phylogénétique des principaux groupes de primates vivants	4
Figure 2. Évolution de l'organisation des couches du CGLd chez les primates	6
Figure 3. Fovéa rétinienne de singe vervet traitée au violet de crésyl	8
Figure 4. Organisation cellulaire de la rétine	10
Figure 5. Illustration schématique des connexions entre les yeux et le CGLd chez le singe	12
Figure 6. Circuiterie intra-corticale de V1	15
Figure 7. Voies visuelles inférieures chez le primate	17
Figure 8. Connexions des aires visuelles chez le primate	18
Figure 9. Règle de conversion de la période gestationnelle	21
Figure 10. Les étapes du développement du CGLd avant la naissance chez le singe	23
Figure 11. L'élimination des neurones du corps genouillé latéral dorsal	24
Figure 12. Représentation chronologique des événements du développement du CGLd chez le singe	25
Figure 13. Chronologie de la neurogénèse dans la rétine, le CGLd et V1	30
2. Article	
Figure 1. Regional volume of the M and P regions and the total of both regions	55
Figure 2. Number of neurons in the M and P regions and the total of both regions	56
Figure 3. Neuronal volume for the M and P regions	57
Figure 4. Cresyl-stained sections of lateral geniculate nuclei from a control and an FASD monkey brain	58
3. Discussion	
Figure 14. Voies de survie et de mort cellulaire	63
Figure 15. Comparaison des ERGs de patients sains et atteint du FAS	68

Liste des abréviations

AIT	Aire antérieure inféro-temporale
CGLd	Corps genouillé latéral dorsal
CGR	Cellules ganglionnaires de la rétine
CIT	Aire centrale inféro-temporale
CS	Collicule supérieur
ERG	Électrorétinographie
FAS	Syndrome de l'alcoolisme fœtal
FASD	Spectre des maladies de l'alcoolisme fœtal
FST	Aire supérieure temporale
K	Koniocellulaire
LIP	Aire intrapariétale latérale
M	Magnocellulaire
MST	Aire médio-temporale supérieure
MT	Aire médio-temporale
P	Parvocellulaire
PIT	Aire postérieure inféro-temporale
PR	Photorécepteurs
RECs	Récepteurs endocannabinoïdes
STP	Aire supérieure temporale polysensorielle
TEP	Tomographie par émission de positrons
V1	Aire visuelle primaire
V2	Aire visuelle secondaire
V3	Aire visuelle tertiaire
V3a	Aire visuelle tertiaire a
V4	Quatrième aire visuelle
VIP	Aire intrapariétale ventrale

*À mon grand-père Amedeo
Je pense beaucoup à toi.*

Remerciements

Un merci infini à ma mère, qui sans elle, je ne serai pas la personne que je suis.

Un merci à mon directeur de recherche, le Dr Maurice Ptito, qui m'a donné la chance de pouvoir travailler dans son laboratoire, pour ses encouragements et pour tous ce que j'ai appris de lui.

Un merci à Dr Mark Burke pour m'avoir appris à développer mon sens de la rigueur scientifique et pour toute son aide.

Un merci à Dr Sébastien Desgent pour ses encouragements et pour toutes les fois qu'il a réussi à me dépanner.

Un merci à Joseph, Daniel, Léa, Isabelle et Mathilde.

Un merci à Dieu.

Chapitre 1

Introduction

1. Introduction

1.1 Préambule

Le système visuel est le plus spécialisé, le plus complexe, le plus utilisé et le plus important parmi les cinq sens que nous possédons. Les primates possèdent approximativement un million d'axones dans le nerf optique qui représentent environ 40% du nombre total des axones des nerfs crâniens. Une grande fraction correspondante du cortex est également impliquée dans l'analyse de l'information visuelle (Brodal, 1992). La voie de la perception visuelle consciente passe par le corps genouillé latéral dorsal (CGLd) du thalamus avant de rejoindre le cortex visuel. Cette voie géniculocorticale sert à transmettre les informations visuelles qui nous permettent de voir la forme et la couleur des objets ainsi que leur position et leur mouvement.

Une forte exposition à l'alcool des fœtus humains durant la grossesse peut occasionner une pathologie qui provoque des troubles neuro-développementaux. Cette pathologie est connue sous le nom du syndrome de l'alcoolisme fœtal (FAS). Elle est reconnaissable par la présence de dysmorphies cranio-faciales (Burke *et al.*, 2009). Parmi les symptômes associés à l'exposition à l'alcool, on retrouve des troubles du comportement et des difficultés d'apprentissage. Une faible exposition à l'alcool peut également présenter des symptômes qui sont regroupés sous le terme du spectre des maladies de l'alcoolisme fœtal (FASD). L'alcool est une substance légale, facile d'accès et fortement utilisée dans notre société. Même si nous connaissons les effets néfastes d'une exposition à l'alcool durant la grossesse depuis l'antiquité, la prévalence de cette maladie a atteint un niveau alarmant dans notre société (Sampson *et al.*, 1997). La majorité des recherches sur le FASD s'intéressent surtout aux cas sévères exposés à de fortes concentrations, même si une plus grande proportion d'enfants ont été exposés à de plus faibles quantités. En utilisant une méthode de stéréologie, des études récentes ont montrées que de telles doses pouvaient induire une diminution du nombre de neurones dans le cortex frontal (Burke *et al.*, 2009) et l'hippocampe (Burke *et al.*, 2007) chez les primates non humains. Actuellement nous connaissons les effets d'une forte exposition à l'alcool sur l'œil et la rétine mais, les effets de plus faibles doses d'alcool sur le

développement du système visuel demeurent encore inconnus. Le but de cette étude est par conséquent de vérifier si de faibles doses d'alcool peuvent occasionner des effets semblables sur le développement du CGLd chez les primates non humains.

Dans ce mémoire, le système visuel sera décrit en mettant l'emphasis sur la rétine, le CGLd, l'aire visuelle primaire (V1) et les aires supérieures. Par la suite, il sera question du développement de ces régions. Les liens entre le développement de la rétine, du CGLd et de V1 seront présentés. Une description sommaire du FAS et les effets de l'alcool sur le développement du système visuel connus à ce jour seront exposés. Le travail accompli sera présenté sous forme d'un article manuscrit. Il sera critiqué et examiné dans le dernier chapitre du présent document.

1.2 Le vervet

Les singes du vieux monde (*Cercopithecidae*) est le groupe des primates non humains qui a le mieux réussi en terme de nombre d'espèces (103), de comportements et d'écologie. Ils sont également parmi nos plus proches parents dans le règne animal (voir la figure 1) (Whitehead & Jolly, 2000; Wilson & Reeder, 2005). Plusieurs *Cercopithecidae* ont les pouces qui peuvent être opposés aux autres doigts ce qui leur permet de manipuler des petits objets avec précision. Ils sont divisés en deux familles : *Cercopithecinae* et *Colobinae*. Les *Cercopithecinae* ont des poches dans les joues, alors que les *Colobinae* n'en ont pas, en revanche, ils ont un estomac qui contient de trois à quatre compartiments (Whitehead & Jolly, 2000). La sous-famille des *Cercopithecinae* d'environ 63 espèces est composée entre autre des vervets, macaques, mangabeys, babouins, mandrills, talapoins, cercopithèques, patas, géladas, *etc.* Alors que la sous-famille des *Colobinae* est constituée d'environ 40 espèces dont les semnopithèques, colobus, rhinopithecus, doucs, entelles, simakobus, *etc.* (Wilson & Reeder, 2005).

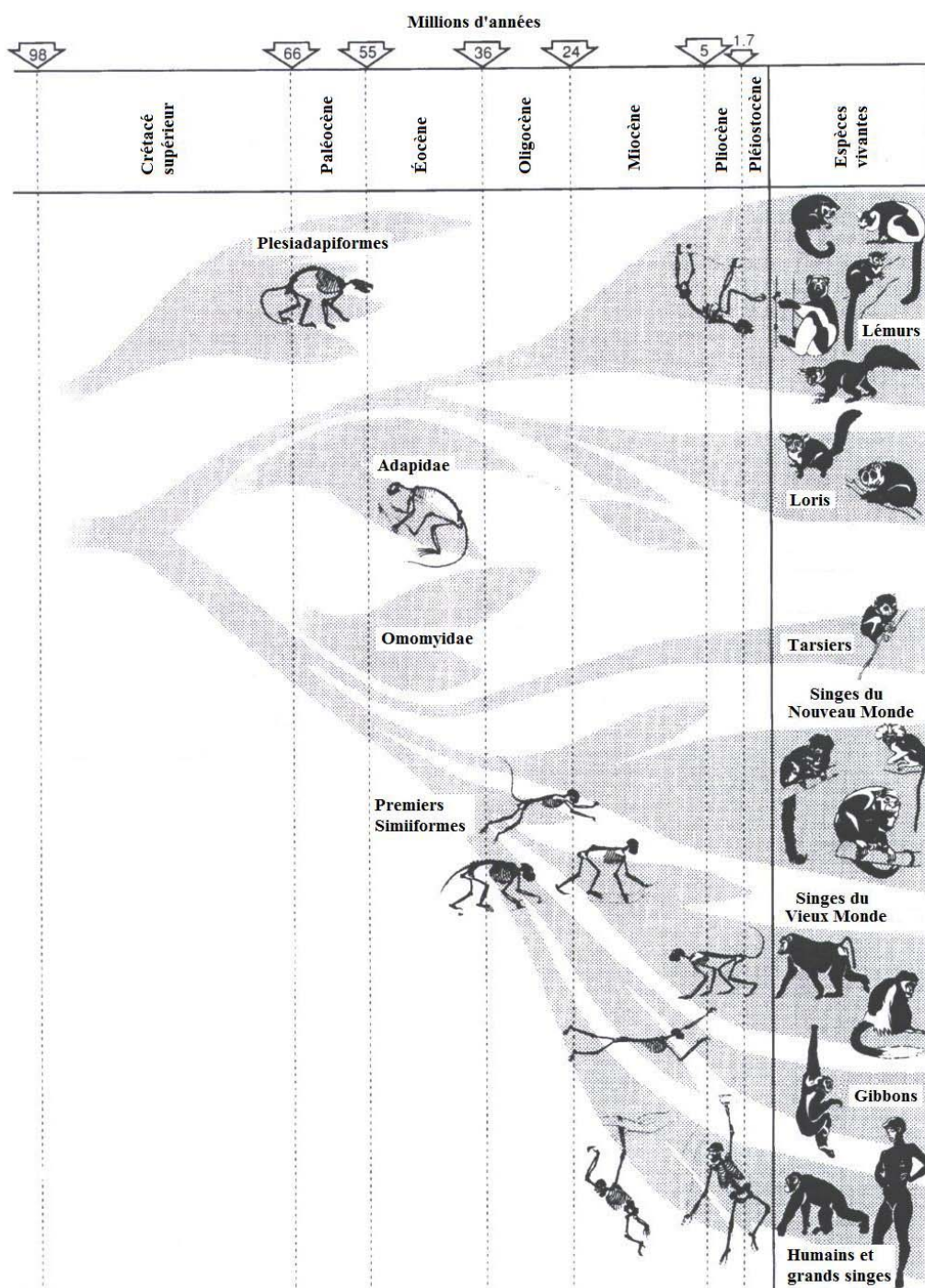


Figure 1- Arbre phylogénétique des principaux groupes de primates vivants.

Figure adaptée de Martin, 1993.

L'actuelle croissance dramatique de l'utilisation du vervet comme modèle d'étude provient en partie de son utilité reconnue comme une alternative comme singe du vieux monde au macaque rhésus, lequel devient de plus en plus difficile à obtenir pour la recherche biomédicale (Freimer *et al.*, 2007). À l'opposé, les vervets originaires des Caraïbes sont abondant, sans maladie, de petites statures et facile à manipuler. Le vervet est également un système idéal en découverte génétique. Les vervets sont utilisés par la communauté scientifique pour des études sur les diabètes, les maladies cardiovasculaires, le SIDA, l'abus de substance, les déficits d'attention, l'alcoolisme, la reproduction, la régénération de tissus et l'expression des gènes (Freimer *et al.*, 2007).

Le singe vervet de St. Kitts (*Cercopithecus aethiops sabeus*) est un singe diurne du vieux monde qui habite surtout dans l'Afrique Subsaharienne. Il a été introduit dans les Caraïbes aux 17^e et 18^e siècles (Freimer *et al.*, 2007). Ces singes vivent dans des habitats ouverts et des environnements fermés. Ses habitudes de vies, par conséquent, se retrouvent entre celles des macaques (*Macaca mulatta* et *Macaca fascicularis*), du babouin (*Papio anubis*) et de l'homme (*Homo sapiens*) (Herbin *et al.*, 1997). Les macaques et les vervets sont tous les deux membres de la famille des *Cercopithecidae*, avec des vies, des organisations sociales et un système d'accouplement similaires (Gilda-Costa & Hauser, 2006). Le vervet est comparable au macaque rhésus tant au niveau du comportement qu'au niveau physiologique (Ziegler & Bercovitch, 1990; Coe *et al.*, 1992; Raleigh *et al.*, 1992; Higley *et al.*, 1996; Disotell, 2000) et il est presque relié aux humains d'une manière équivalente (Page & Goodman, 2001; Raaum *et al.*, 2005). Des études comparatives sur l'ordre du temps des événements du développement ont montré qu'il est hautement conservé et prévisible à travers des espèces en incluant les primates (Clancy *et al.*, 2001). Les macaques et le vervet ont également la même durée de gestation (Huberman *et al.*, 2005; Burke *et al.*, 2009) et la structure du CGLd de ses deux primates est très similaire à celle des humains dans l'évolution (voir la figure 2). Le vervet est donc un animal de choix pour étudier les effets de l'alcool sur le développement du CGLd.

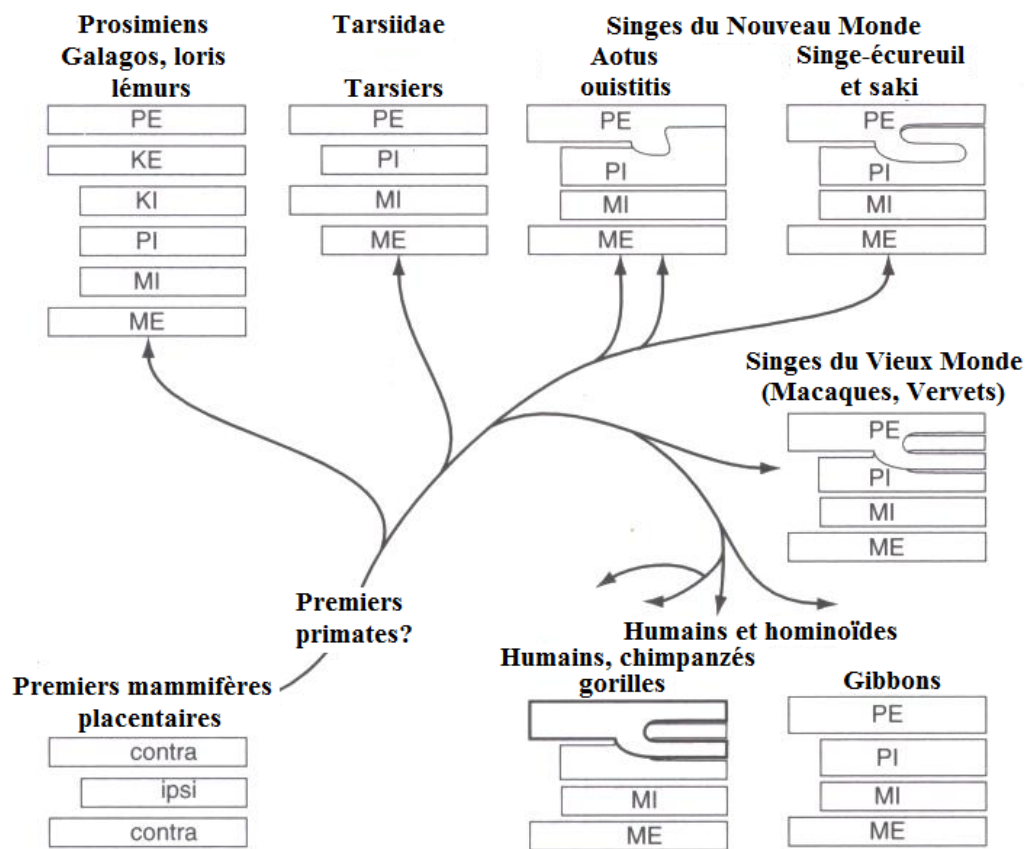


Figure 2- Évolution de l'organisation des couches du CGLd chez les primates.

Figure adaptée de Kremers *et al.*, 2005.

1.3 Organisation anatomo-fonctionnelle du système visuel

1.3.1 La rétine

Le traitement initial de l'image prend place dans la rétine. Celle-ci projette vers quatre noyaux ayant des fonctions différentes. Presque la majorité (90%) des projections rétiniennes se dirigent vers le CGLd pour la perception des objets. Les projections rétiniennes restantes (10%) sont partagées entre le collicule supérieur (CS) qui sert au contrôle du mouvement des yeux par la programmation des saccades oculaires, le pretectum qui contrôle la stabilisation de l'image sur la rétine à l'aide de la pupille et le noyau supra-chiasmatique qui contrôle les rythmes diurnes et les changements hormonaux (Daw, 2006). La rétine comporte deux types de photorécepteurs (PR) sensibles aux photons : les bâtonnets et les cônes. Les bâtonnets, qui ne disposent que d'un seul pigment sensible à une lumière même faible, discernent les formes claires et sombres ainsi que le mouvement. Ils sont principalement situés au niveau de la périphérie de la rétine (Osterberg, 1935). Les cônes qui ont besoin de davantage de lumière, sont divisés en trois catégories contenant chacune un pigment qui réagit à différentes ondes lumineuses (vert, rouge ou bleu). La combinaison de ces ondes permet de distinguer les couleurs. Ils se retrouvent en grande partie dans la fovéa, le centre de la rétine (Osterberg, 1935).

Cinq principales couches forment la rétine (voir figure 3). La lumière est absorbée par les PR. L'énergie des photons est transformée par ceux-ci en signaux électriques. Ces derniers sont dirigés vers les cellules bipolaires de la couche nucléaire interne, qui à leur tour se connectent aux cellules ganglionnaires de la rétine (CGRs). Les axones des CGRs forment le nerf optique qui projette vers le CGLd. Deux autres ensembles de cellules (horizontales et amacrines) ont également leurs corps cellulaires dans la couche nucléaire interne. Ceux-ci forment des connexions latérales. Les cellules horizontales connectent ensemble les terminaux des PR qui sont dans la couche plexiforme externe. Les cellules amacrines font des connexions latérales entre les

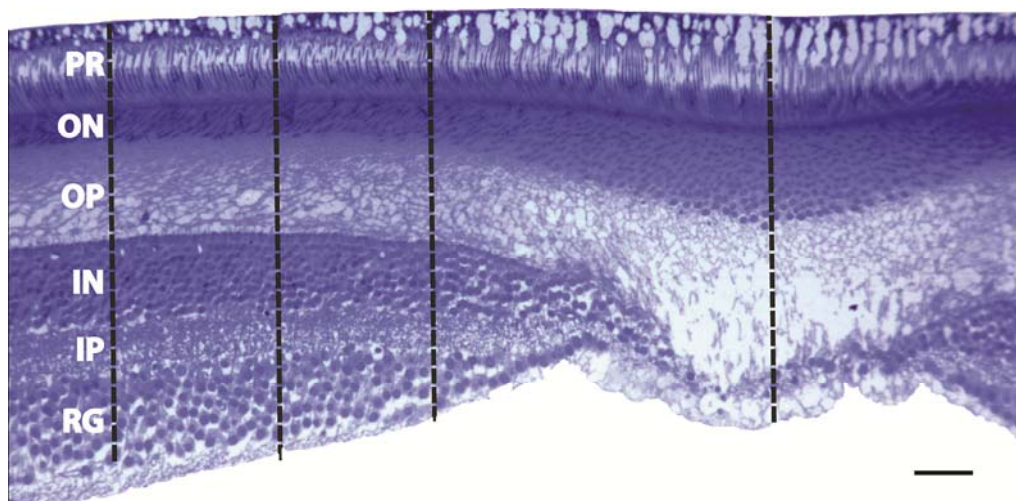


Figure 3- Fovéa rétinienne de singe vervet traitée au violet de crésyl.

La couche de PR a été utilisée pour aligner les sections. RG est la couche de CGRs; IP est la couche plexiforme interne; IN est la couche nucléaire interne; OP est la couche plexiforme externe; ON est la couche nucléaire externe; échelle de 50µm. Papia MF, Burke MW, Taras O, Palmour RM, Ervin FR & Ptito M. (2008) No neuronal loss in the retina and lateral geniculate nucleus of non-human primates with prenatal alcohol exposure. Society of Neuroscience Meeting, Washington DC.

terminaux des cellules bipolaires dans la couche plexiforme interne. Ces connexions latérales sont utilisées pour comparer les niveaux de lumière qui tombent sur les différents endroits de la rétine (voir figure 4). (Werblin & Dowling, 1969)

La rétine des primates du vieux monde contient approximativement 80 types de cellules : 4 types de PR, 10 types de cellules bipolaires, 2 types de cellules horizontales, 30 à 40 types de cellules amacrines, et 20 types de CGRs (Kaplan, 2004).

1.3.1.1 Les cellules ganglionnaires de la rétine

1.3.1.1.1 Parasols et midgets

Il existe deux types majeurs de CGRs distinguées par leurs morphologies : les cellules midgets (80%) et parasols (10%) (Polyak, 1941; Martin & Grünert, 2004). Il a été établi que les cellules midgets du centre reçoivent leurs entrées à partir des cellules bipolaires qui obtiennent leur entrée d'un seul cône. Les cellules parasols répondent essentiellement à une modification d'intensité lumineuse. Les cellules parasols se connectent à un sous-groupe de cellules bipolaires provenant de plusieurs cônes. L'influx des bâtonnets destiné à ces cellules bipolaires des cônes provient des arbres dendritiques des cellules bipolaires des bâtonnets (Rodieck, 2003). Ces différences anatomiques de base occasionnent des différences dramatiques dans les propriétés physiologiques et par correspondance dans les fonctions visuelles (Kaplan, 2004).

Des injections de traceurs dans le CGLd ont montré que les cellules parasols projettent vers les couches magnocellulaires (M) du CGLd (les deux couches ventrales), tandis que les cellules ganglionnaires midgets innervent les quatre couches supérieures, les couches parvocellulaires (P) (Leventhal *et al.*, 1981; Perry *et al.*, 1984). Ces destinations anatomiques ont démontrés la présence des deux voies visuelles principales : M et P. La ségrégation des voies M et P commence à la première synapse visuelle : les cellules bipolaires midgets innervent les cellules ganglionnaires midgets et les cellules ganglionnaires parasols sont innervées par les cellules bipolaires diffuses (Boycott & Wässle, 1991; Calkins & Sterling, 1999). Chaque point dans la rétine est couvert par les deux types de cellules.

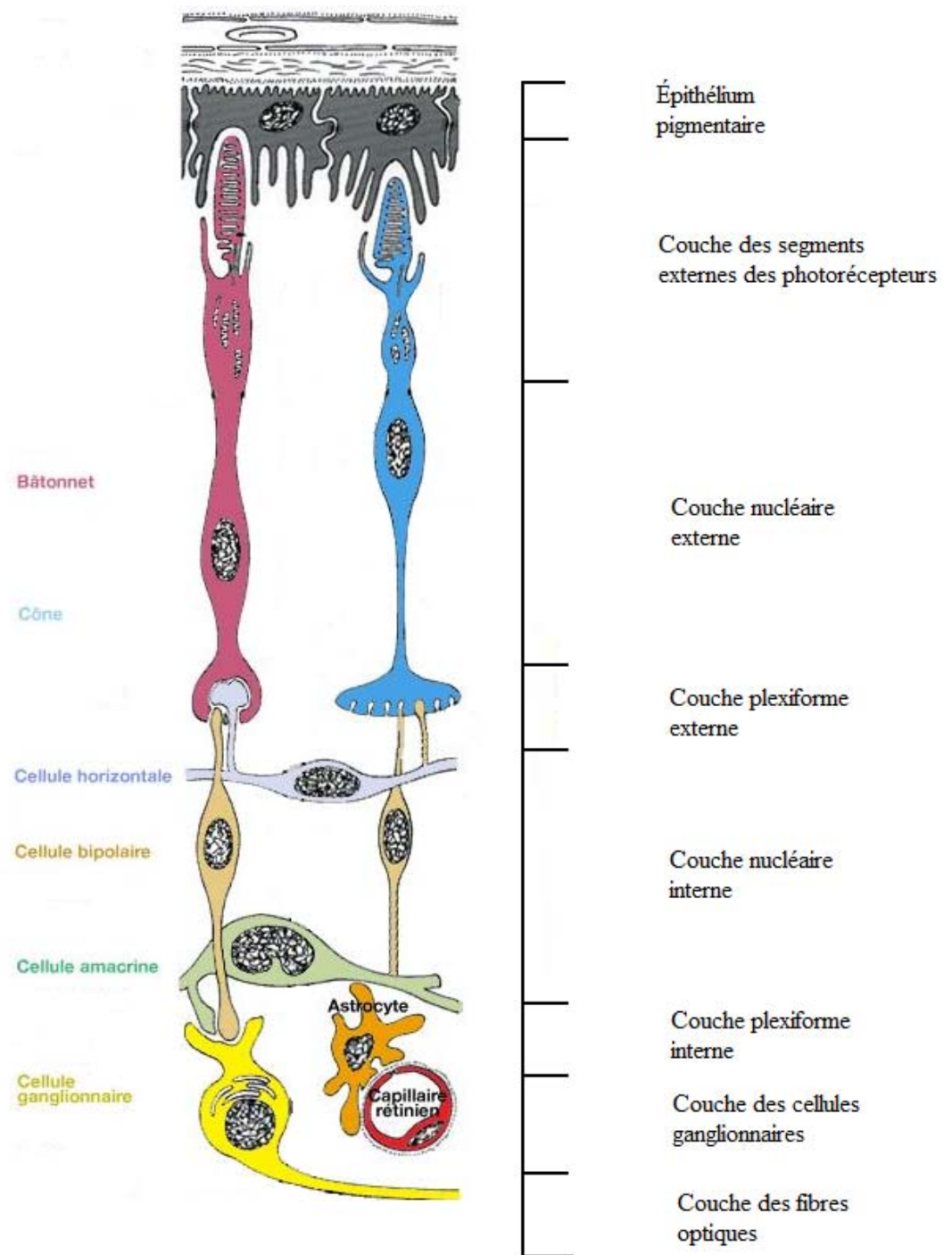


Figure 4- Organisation cellulaire de la rétine

Schéma de l'organisation des types cellulaires de la rétine dans les diverses couches.

Figure adaptée de http://www.vetopsy.fr/sens/visu/ret1_struc.php.

1.3.1.1.2 Les cellules ganglionnaires bistratifiées

Un autre type morphologiquement distinct a été ajouté aux deux types de cellules midgets et parasols avec l'inclusion des cellules ganglionnaires bistratifiées (10%) (Martin & Grünert, 2004), qui font des contacts synaptiques avec les sous-couches hautes et basses de la couche plexiforme interne (Dacey & Lee, 1994; Dacey, 2000). Ces CGRs projettent surtout dans les couches intercalées du CGLd. Ces couches se situent en dessous des couches majeures M et P du CGLd. Elles sont appelées les couches interlaminaires ou les couches koniocellulaires (K). Les cellules dans ces régions projettent vers les régions riches en cytochrome oxydase (blobs) des couches supérieures de V1 (Diamond *et al.*, 1985; Hendry and Yoshioka, 1994).

1.3.2 Le corps genouillé latéral dorsal

Le CGLd des primates est constitué de six couches cellulaires distinctes reconnaissable par la taille des neurones et leurs connections. Les couches sont numérotées de 1 à 6, la couche 1 étant celle à l'extrémité ventrale et la couche 6 étant celle à l'extrémité dorsale. Les deux premières sont appelées les couches M et les quatre dernières se nomment les couches P. Entre les couches M et P on retrouve les inter-couches K. Les CGRs des deux yeux projettent dans le CGLd via les nerfs optiques qui décussent au niveau du chiasme optique et qui se terminent dans des couches séparées (voir figure 5). Le CGLd reçoit des signaux des CGRs pour les transmettre au cortex, principalement V1. Les signaux provenant des deux yeux se rassemblent par la suite dans V1. D'autres projections provenant de la rétine arrivent au cortex à partir du CS à travers le pulvinar, connu comme la voie extra-striée.

1.3.2.1 Les couches magnocellulaires

Les couches M (1 et 2) reçoivent des afférents des rétines contra-latérales et ipsi-latérales respectivement (voir figure 5) provenant des CGRs parasols. Les cellules M projettent à leur tour dans les couches IVCα et VI de V1 (Murray *et al.*, 2008). Elles ont

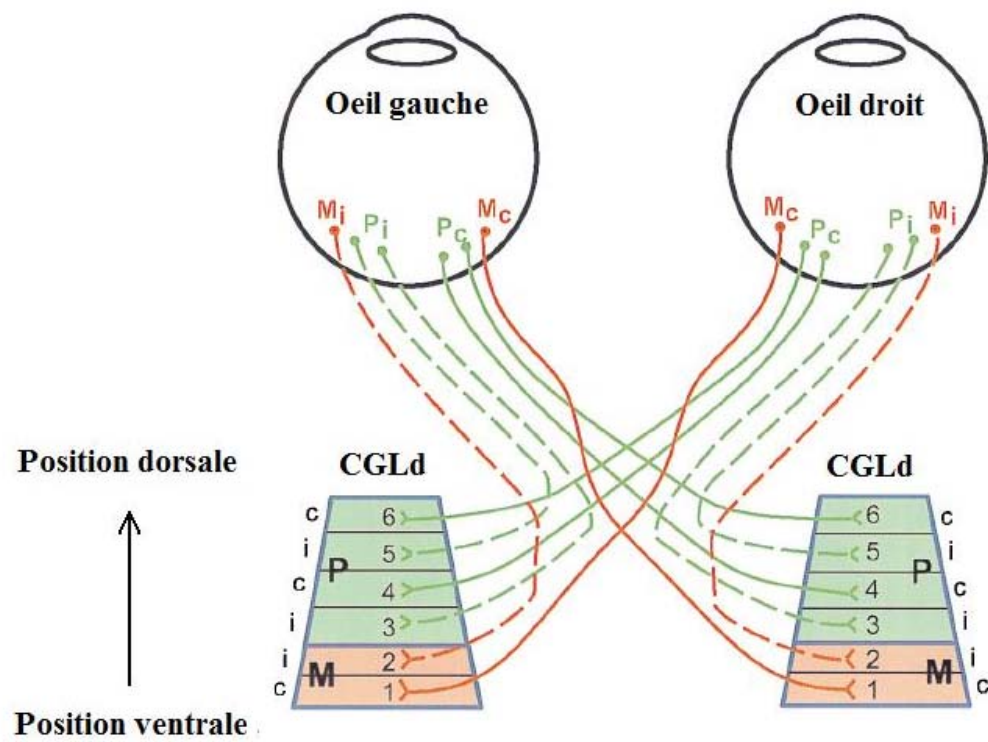


Figure 5- Illustration schématique des connexions entre les yeux et le CGLd chez le singe

Figure adaptée de Meissirel *et al.*, 1997.

un grand volume cellulaire, un grand champ récepteur et les axones ont une grande vitesse de conduction. Elles ont une grande sensibilité pour le contraste mais, n'ont pas de sélectivité pour les couleurs. Elles représentent environ 10% de la population cellulaire du CGLd (Kaplan, 2004).

1.3.2.2 Les couches parvocellulaires

Les couches P (3 à 6) reçoivent des afférents des rétines contra-latérales (couches 4 et 6) et des rétines ipsi-latérales (couches 3 et 5) provenant des CGRs midgets (voir figure 5). Les couches P projettent aux couches IVA et IVC β de V1 (Murray *et al.*, 2008). Les collatérales de ces deux régions sont aussi envoyés à la couche VI, cette couche projette de nouveau dans le CGLd (Gilbert & Kelly, 1975). Elles ont un petit volume cellulaire, un petit champ récepteur et les axones ont une faible vitesse de conduction. Elles ont une faible sensibilité pour le contraste mais, elles ont une grande sélectivité pour les couleurs. Elles représentent environ 80% de la population cellulaire du CGLd (Kaplan, 2004).

1.3.2.3 Les inter-couches koniocellulaires

Le CGLd des primates comprend six inter-couches de neurones K. Les couches K sont situées en position ventrale de chacune des deux couches M et des quatre couches P (Hendry & Reid, 2000). Les neurones K reçoivent des signaux rétinien des CGRs bistratifiées et projettent aux couches superficielles de V1 ainsi qu'à l'aire médio-temporale (MT, aussi appelée V5) (Sincich *et al.*, 2004; Sincich & Horton, 2005). Les cellules K ne sont pas restreintes aux couches K. Elles sont également présentes dans les couches M et P. Mais peu importe leurs emplacements, elles innervent les mêmes cibles dans le cortex (Hendry & Reid, 2000). Certaines cellules K ont un grand volume cellulaire et d'autres ont une grandeur qui varie. Elles ont un grand champ récepteur et les axones ont une faible vitesse de conduction mais, la vitesse peut varier. Elles ont une grande sensibilité pour le contraste et elles ont une sélectivité pour le bleu-activé dans le

spectre des couleurs. Elles représentent environ 10% de la population cellulaire du CGLd (Kaplan, 2004).

1.3.3 L'aire visuelle primaire et secondaire

V1 est un endroit où les objets sont analysés en détail. L'analyse de la forme se déroule par l'entremise de cellules qui répondent aux extrémités, aux courbes et aux coins des objets. L'analyse du mouvement se fait par le biais des cellules qui répondent à la direction du mouvement et à la direction du mouvement par rapport à son environnement. Et d'autres cellules qui répondent aux longueurs d'ondes, déterminent la couleur. V1 est le premier endroit dans lequel les signaux des deux yeux convergent vers une cellule. Il possède en général six couches numérotées de I à VI de l'extérieur vers l'intérieur du cortex (voir la figure 6). Les signaux provenant du CGLd qui arrivent dans la couche IV projettent aux couches II et III. Les couches II, III projettent aux couches V et VI. La couche VI envoie des signaux au CGLd. Les signaux à partir de chaque œil dans la couche IV sont séparés chez l'adulte, mais les cellules monoculaires de la couche IV convergent vers les cellules binoculaires dans les couches II, III, V et VI.

La couche IV du cortex visuel se divise en sous-couches : IVA, IVB, IVC α et IVC β . Les projections des cellules du mouvement dans les couches M du CGLd rentrent dans la couche IVC α , lesquelles projettent dans la couche IVB. La couche IVB projette dans l'aire visuelle secondaire (V2) et MT. Les cellules dans V2 projettent vers MT, qui s'occupe du mouvement, la disparité et le mouvement en profondeur (Zeki, 1978).

Les cellules des couches P du CGLd transmettent les informations de la couleur et des détails fins aux couches IVC β et IVA. Ces signaux sont analysés dans les couches II et III de V1 dans des groupes de cellules en forme de piquet nommées des blobs. Les blobs sont des régions riches en cytochrome oxydase. Les cellules se situant entre les blobs, répondent à l'orientation, et ont moins de sélectivité pour la couleur (Livingstone & Hubel, 1984).

Les cellules dans V2 qui analysent la couleur, la forme et la disparité sont également séparées. V2 est constituée de trois ensembles de bandes : épaisse, fine et

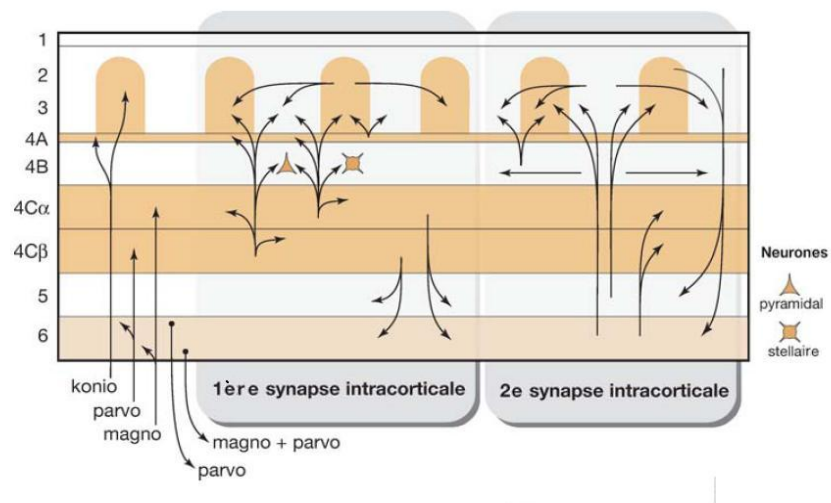


Figure 6- Circuiterie intra-corticale de V1.

Les trois voies géniculo-striées entrant dans V1 se terminent dans les couches II et III.

Figure adaptée de Sincich & Horton, 2005.

pâle. Les bandes fines reconnaissent les propriétés à la surface comme la couleur et la luminosité. Les cellules spécifiques à la disparité sont concentrées dans les bandes épaisses. Alors que les cellules spécifiques à l'orientation sont concentrées dans les bandes pâles (Hubel & Livingstone, 1987). Les bandes fines projettent vers V4, une région qui répond à la couleur et à la forme. Tandis que les bandes épaisses projettent vers MT et l'aire médio-temporale supérieure (MST) (DeYoe & Van Essen, 1985).

Les populations de cellules qui analysent les mêmes informations et les projections décrites sont celles dominantes. Il existe également des interconnexions entre les voies M et P (Ts'o *et al.*, 2001; Sincich & Horton, 2002; Xiao & Felleman, 2004). Ils existent donc des voies principales mais, il n'y a aucunement une ségrégation totale dans la rétine, le CGLd et V1. L'ensemble de ces connexions peut être observé sur la figure 7.

1.3.4 Les aires supérieures

Après les aires V1 et V2, l'information visuelle se dirige vers plus d'une trentaine d'aires du cortex cérébral chez le macaque (voir la figure 8). Ces 32 aires sont amplement interconnectées dans le processus de la vision et reposent le long de deux voies nommées la voie dorsale (pariétale) et la voie ventrale (temporale). Ces voies ont été découvertes à la suite des travaux de Ungerleider et Mishkin (1982).

1.3.4.1 La voie dorsale

La voie dorsale ou M, passe par V1 et V2, et par la suite s'en va au cortex pariétal. Cette voie s'occupe principalement du «où?», c'est-à-dire, de la position et du mouvement des objets ainsi que du contrôle du mouvement de l'œil. La voie dorsale est constituée de plusieurs régions corticales dont l'aire visuelle tertiaire (V3), MT, MST et les aires intrapariétales ventrales et latérales (VIP et LIP). V3 reçoit de l'information de V2 et semble être responsable de l'analyse des indices locaux du mouvement (Gegenfurtner *et al.*, 1997). MT reçoit de l'information de V3 et semble avoir un rôle

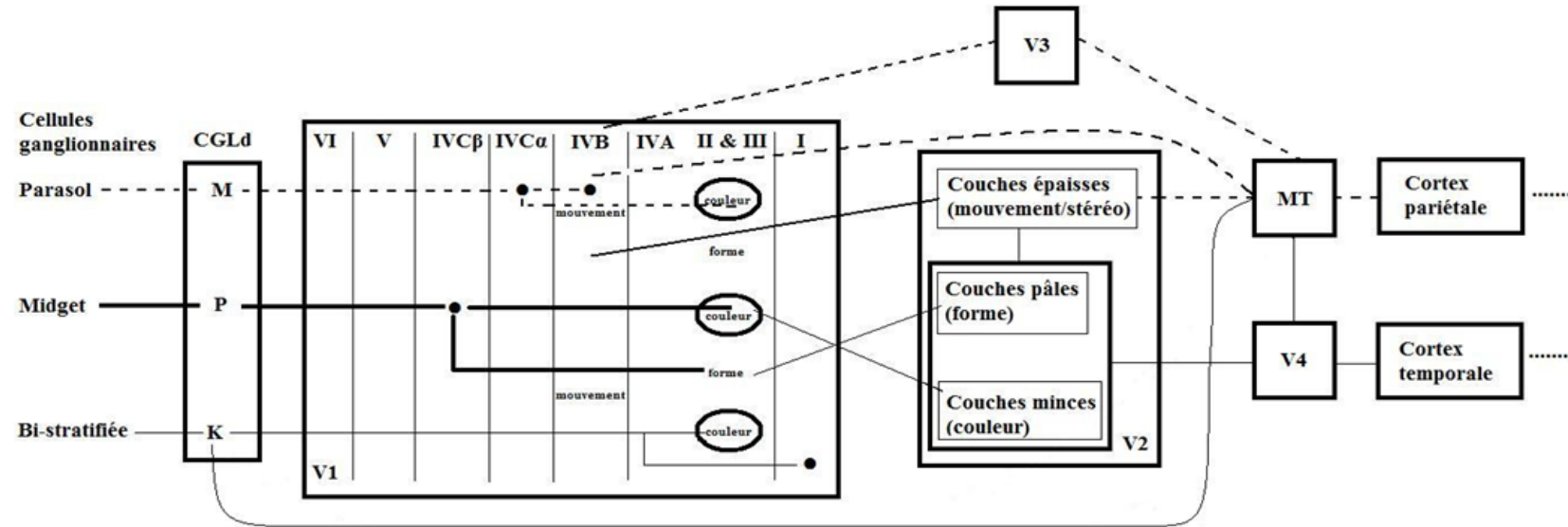


Figure 7- Voies visuelles inférieures chez le primate

Schéma des voies visuelles chez le primate. Figure adaptée de Livingstone & Hubel, 1988 et Kaplan, 2004.

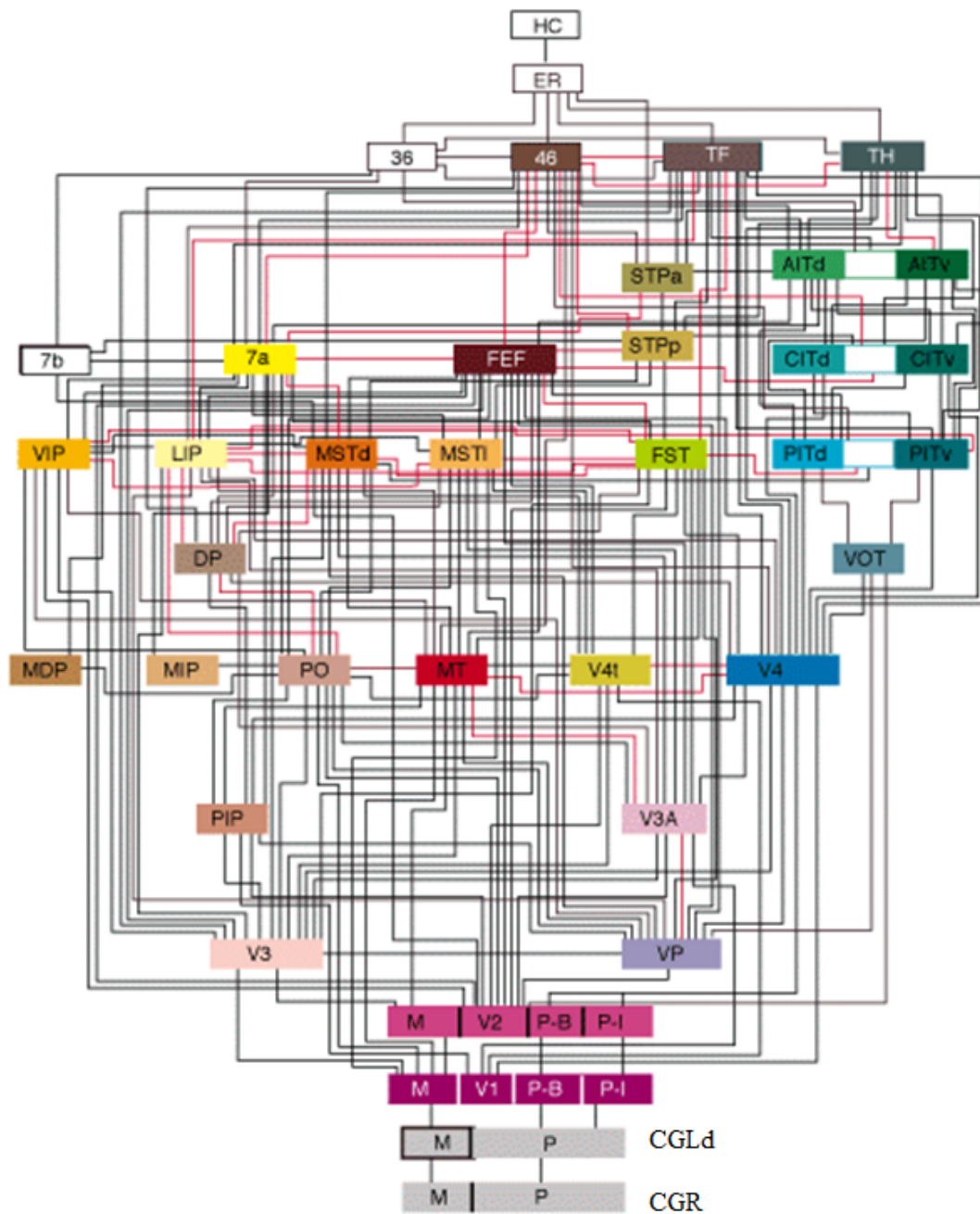


Figure 8- Connexions des aires visuelles chez le primate.

Figure adaptée de Felleman & Van Essen, 1991.

dans la perception du mouvement linéaire (direction et vitesse). MT transmet par la suite de l'information visuelle vers deux directions. La première se dirige vers MST et la seconde vers VIP.

MST est divisée en deux régions avec des fonctions distinctes (dorsale (MSTd) et latérale (MSTl)). MSTd s'occupe du codage du flux optique (Duffy & Wurtz, 1991; Duffy & Wurtz, 1991a) et MSTl contribue à l'intégration du mouvement d'un objet dans l'environnement et à la distinction entre la figure et le fond (Tanaka, 1993). MST est donc, en plus d'être sensible au déplacement linéaire, sensible au déplacement radiaire et aux configurations complexes de mouvements, qui correspondent au déplacement des éléments de notre environnement lorsque l'on se déplace dans celui-ci. Toutes ces informations sont par la suite acheminées à l'aire supérieure temporale (FST) et à l'aire supérieure temporale polysensorielle (STP).

La seconde voie partant de MT se dirige vers le lobe pariétal, où se trouve VIP qui effectue une représentation multisensorielle cranio-centrique de l'espace péripersonnel (Bremmer *et al.*, 1999; Bremmer *et al.*, 2002). Par la suite, LIP reçoit de l'information de VIP et de MSTd. LIP serait engagée dans les processus de l'attention et de la conservation de la continuité de l'espace visuel lors de mouvements saccadiques (Duhamel *et al.*, 1992). L'information visuelle arrive par la suite à l'aire 7a. Celle-ci serait impliquée dans les processus attentionnels (Steinmetz *et al.*, 1994) et dans la transformation des informations visuelles en coordonnées allocentriques (Snyder *et al.*, 1998).

1.3.4.2 La voie ventrale

La voie ventrale ou P, se dirige vers V1 et V2 pour ensuite aller au cortex temporal. Cette voie s'occupe principalement du «quoi?», c'est-à-dire, de la forme et de la couleur d'un objet, de l'identification de la scène. Le long de la voie dorsale le flux d'information atteint la quatrième aire visuelle (V4). V4 contient plusieurs cellules qui répondent à la couleur et à la forme (Zeki, 1978; Pasupathy & Connor, 2002). Par la suite, l'information se dirige consécutivement dans l'aire postérieure inféro-temporale (PIT), l'aire centrale inféro-temporale (CIT) et l'aire antérieure inféro-temporale (AIT)

(voir la figure 8). AIT serait responsable de la reconnaissance des formes et celle-ci, est la dernière aire exclusivement visuelle de la voie ventrale. Par la suite les signaux se dirigent vers le cortex préfrontal pour la prise de décision et vers le cortex prémoteur et moteur si une action est déclenchée par le stimulus visuel (Vibert *et al.*, 2005).

1.4 Développement anatomique du système visuel

1.4.1 Développement de l'œil et de la rétine

Les caractéristiques optiques de l'œil change peu entre la naissance et l'âge adulte. La longueur axiale est approximativement à 60% de la distance correspondante chez l'adulte, une différence qui pourrait se traduire par une diminution de l'image rétinienne dans l'œil du nouveau-né. Toutefois, la longueur réduite de l'axe est compensée par une plus petite taille de la pupille. Par conséquent, la quantité de lumière qui tombe dans la rétine par degré carré est essentiellement semblable aux adultes à la naissance (Banks & Bennett, 1988). Dans la rétine, les cellules ganglionnaires arrivent à maturité avant n'importe quel autre type de cellule chez les humains et les primates (LaVail *et al.*, 1991). Au 69^e jour de gestation chez le macaque, les projections rétiniennes des yeux sont présentes dans le CGLd et au 84^e jour de gestation, la ségrégation et la symétrie spécifique à chaque œil est très avancée (Hendrickson & Rakic, 1977; Huberman *et al.*, 2005). La surproduction initiale de cellules ganglionnaires rétiniennes est suivie d'une étroite réduction dans le nombre d'axones du nerf optique qui survient autour de la 14^e semaine chez les singes et entre la 20^e et 30^e semaine embryonnaire chez le fœtus humain (Provis *et al.*, 1985) (voir la figure 9). L'émergence de la stratification spécifique à chaque œil dans le CGLd coïncide avec une diminution des cellules ganglionnaires. Chez les humains, la myélinisation des fibres du nerf optique est presque complète vers l'âge de deux ans (Magoon & Robb, 1981).

En tenant compte des moments de la production de cellules et de la synaptogénèse, la région centrale de la rétine semble se développer avant les régions périphériques (LaVail *et al.*, 1992). À l'opposé, la structure des récepteurs bâtonnets et l'espacement des PR dans la rétine périphérique sont quasi matures à la naissance chez

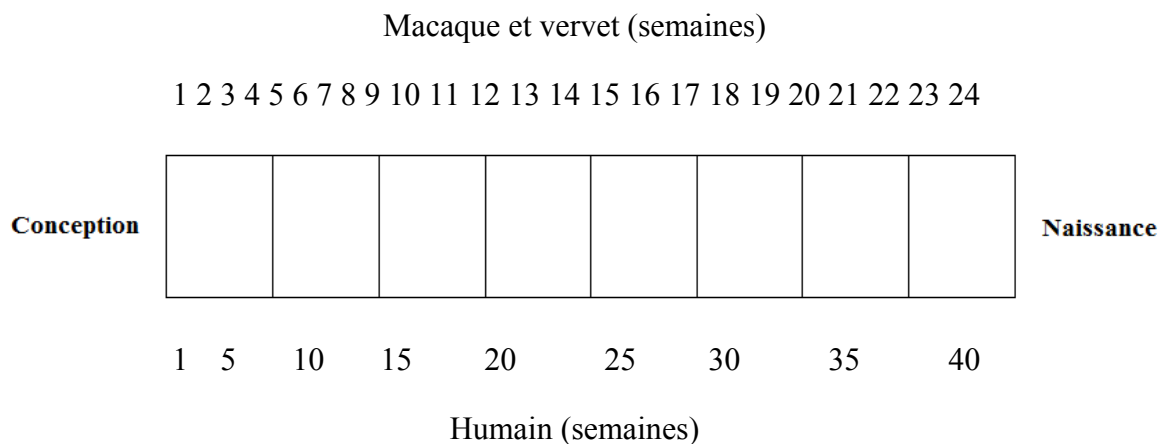


Figure 9- Règle de conversion de la période gestationnelle.

Cette figure montre comment se développe le macaque et le vervet par rapport à l'humain durant la gestation sur l'échelle du temps depuis la conception à la naissance.

Figure adaptée de Simos, 2002.

les humains et les primates. Peu avant la naissance, les cellules ganglionnaires rétiniennes et les autres cellules de support, qui initialement s'étendent dans le centre de la rétine, progressivement se déplacent latéralement de manière que lors des premiers mois postnataux la lumière puisse atteindre le centre de la fovéa sans obstruction. Au même moment, une augmentation significative de la densité de cônes de la fovéa est remarquée (Yuodelis & Hendrickson, 1986). Entre la naissance et l'adolescence, l'espacement moyen des cônes diminue par un facteur de deux (Banks & Bennett, 1988). Il est possible que ce changement soit dû à la migration des cônes à partir des bordures de la dépression de la fovéa vers le centre de la fovéa. Un examen microscopique de la forme des cônes à la naissance révèle que le segment interne, qui est plus large et plus court dans l'enfance, ne devient pas complètement mature avant l'âge de 45 mois. Le diamètre du segment externe demeure relativement inchangé pendant que sa longueur décuple au-delà de cet âge (Yuodelis & Hendrickson, 1986). Les changements de maturation liés à la structure et à la distribution des PRs sont d'une importance primordiale dans le développement de la résolution spatiale lors des premiers mois de vie (Simos, 2002).

1.4.2 Développement du corps genouillé latéral

Tous les neurones du CGLd naissent vers la fin du premier quart de la gestation chez les fœtus humain (Dekaban, 1954) et des simiens (Rakic, 1977) (voir la figure 10). Les neurones du CGLd naissent selon un gradient ventral/dorsal, la partie ventrale étant celle la plus élevée donne naissance aux cellules M et K adjacentes. Par la suite, en position dorsale apparaîtront les cellules P et K adjacentes (Rakic, 1977). Le développement du CGLd s'effectue également selon un gradient rostral/caudal. Approximativement au même moment le CGLd est différencié anatomiquement. Entre E48 et E103, un intense remodelage se déroule (voir figure 11 et figure 12) qui éliminera les neurones n'ayant pas reçu suffisamment de facteurs neurotrophiques pour survivre. La stratification en couches commence à la mi-gestation dans les deux espèces et est presque complète à la naissance (Hitchcock & Hickey, 1980; Rakic, 1977) (voir la figure 12). Les fibres du nerf optique arrivent et commencent à former des synapses dans le

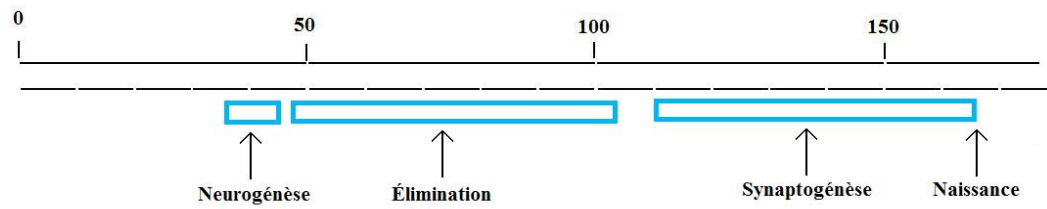


Figure 10- Les étapes du développement du CGLd avant la naissance chez le singe.

Une courte neurogénèse précède une intense élimination. Par la suite, la synaptogénèse se déroule lors du dernier trimestre de gestation.

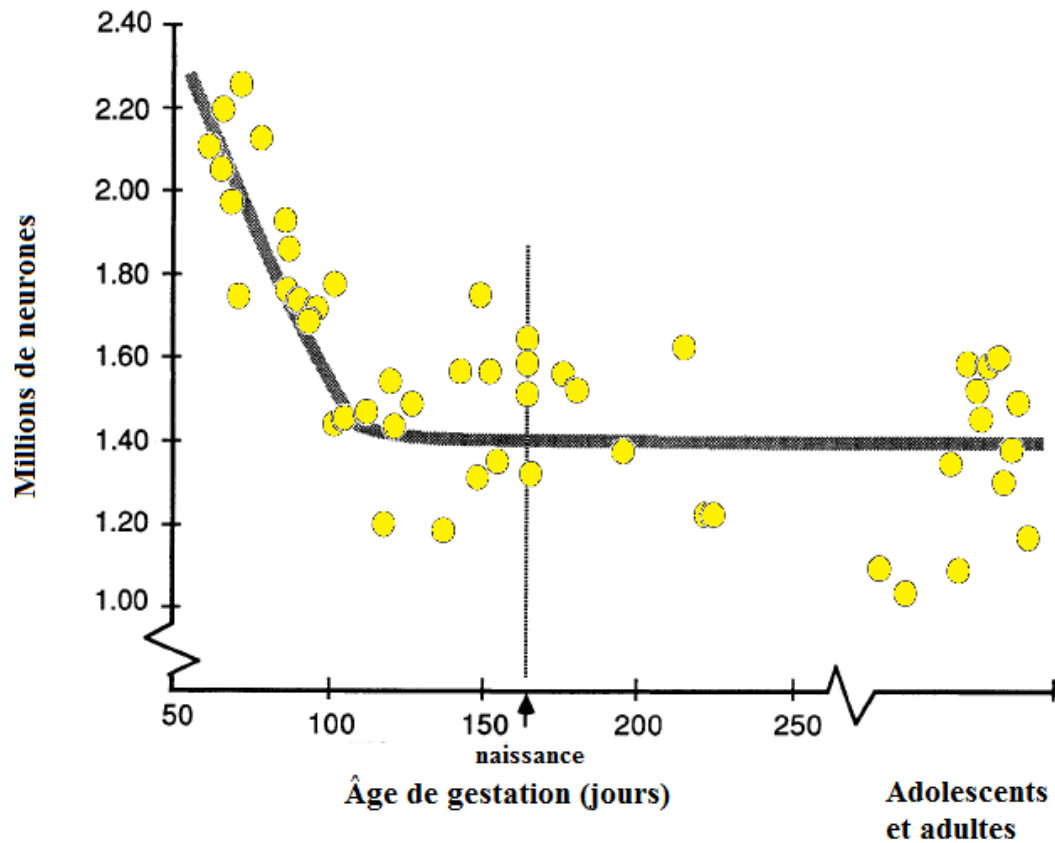


Figure 11- L'élimination des neurones du corps genouillé latéral dorsal.

Graphique de l'élimination des neurones à partir du 61^e jour de gestation à la maturité dans le CGLd chez le singe. Figure adaptée de Williams & Rakic, 1988.

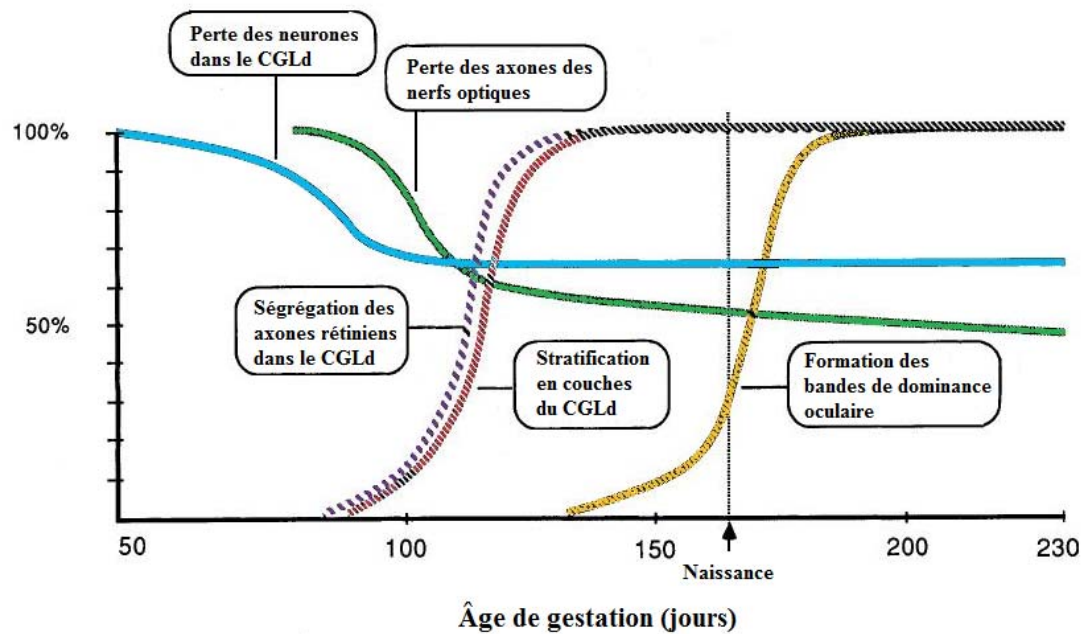


Figure 12- Représentation chronologique des événements du développement du CGLd chez le singe.

La perte de neurones dans le CGLd est presque complétée lorsque le nombre d'axones des nerfs optiques commence à diminuer. Figure adaptée de Williams & Rakic, 1988.

CGLd des primates à la 8^e semaine de gestation (Hendrickson & Rakic, 1977). Initialement, les entrées des deux yeux s'entremêlent extensivement. La ségrégation des entrées à partir des deux yeux survient avant la naissance chez le singe rhésus et précède la formation des colonnes de dominance oculaire dans la couche IV de V1 (Rakic, 1976) (voir figure 12). Une carte rétinienne précoce est déjà en place lorsque toutes les fibres du nerf optique ont atteint le CGLd. Chez les humains, la taille des cellules des couches P atteignent leurs dimensions adultes durant la première année (Hickey, 1977). À l'opposé, la grosseur du corps cellulaire dans les couches M continuent de croître jusqu'à peu après la fin de la deuxième année (Garey & de Courten, 1983). La forme des arbres dendritiques des cellules du CGLd est presque mature à la naissance lorsque la synaptogénèse se termine (voir figure 10). Le nombre d'épines dendritiques, toutefois, atteint un sommet à la naissance chez les singes (Garey & Saini, 1981) et autour de l'âge de quatre mois chez les humains (de Courten & Garey, 1982). Par la suite, le nombre d'épines diminuent pour atteindre le niveau adulte vers 9 mois (chez les humains) (de Courten & Garey, 1982). Le nombre de synapses suit une tendance similaire dans les couches M et P, puisqu'il diminue de moitié à partir de la naissance jusqu'à 16^e et 8^e semaine respectivement chez les singes (Gottlieb *et al.*, 1985). Les classes de cellules dans la rétine et le CGLd du singe sont clairement reconnaissables à la naissance (Simos, 2002).

1.4.3 Développement de l'aire visuelle primaire

La plaque néocorticale est formée par les cellules qui migrent à partir des couches de cellules précurseurs qui sont à la surface des ventricules dans le fœtus. Durant leur migration, les neurones nouvellement formés doivent parcourir une énorme distance vers la plaque corticale qui se développe. La migration neuronale se déroule d'une manière ordonnée à partir des couches profondes vers les couches superficielles (couche VI vers la couche I). Les cellules migratrices trouvent leur chemin vers leur destination finale en voyageant le long des cellules gliales radiales (Rakic, 1972). La migration des cellules est effectuée d'une manière spatiale spécifique, de façon que

durant le processus de migration, les cellules conservent leurs positions relatives qu'elles avaient dans la zone ventriculaire.

L'ontogénèse de V1 a été étudiée chez les primates en utilisant des traceurs autoradiographiques comme la thymidine tritiée. Quand ce composé est injecté dans les femelles enceintes, il voyage dans le flux sanguin et le placenta du fœtus où il marque sélectivement les cellules qui sont à leur dernière étape de division cellulaire. Les injections sont normalement faites à des temps différents durant la gestation. On permet aux cellules un temps suffisant pour migrer vers leurs positions finales dans la plaque corticale. Des coupes de cerveaux à partir de singes nouveau-nés sont radiographiées pour déterminer la position des cellules marquées. En utilisant cette méthode, les chercheurs ont conclu que l'ensemble de la neurogénèse corticale des primates se complète durant la première moitié de la gestation (Rakic, 1991).

La plupart des axones géniculo-corticaux approchent la plaque corticale avant que tous les neurones qui formeront la couche IV aient complété leur migration. Les axones qui s'approchent n'entrent pas dans la plaque corticale immature immédiatement, mais forment une zone intermédiaire en dessous, connue comme la sous-plaque. La sous-plaque sert de compartiment d'attente pour les terminaux des axones du CGLd jusqu'au moment que la couche IV soit formée (Shatz *et al.*, 1990). Les neurones de la sous-plaque projettent dans les couches corticales qui se forment et semblent jouer un rôle d'échafaudage pour les axones qui arrivent. Les afférents géniculo-corticaux débutent la formation de synapses avec les neurones de la couche IV autour de la 18^e semaine de gestation (Rakic, 1976).

Il est inconnu si les signaux neuronaux entre les axones géniculo-striés entrant et les cellules de la sous-plaque sont directement impliqués dans la sélection des cibles de guidage ou si l'activité facilite un processus d'affinité chimio-attractive qui en retour détermine la sélection de la cible (Simos 2002). À la naissance, V1 présente déjà un patron de stratification adulte. Les colonnes sont également présentes avant la naissance. Les colonnes du cortex qui deviennent fortement marqué par la cytochrome oxydase dans les couches II et III ont été observées aussi tôt que la 21^e semaine de gestation. Il semble que même si le nombre de compartiments de cytochrome oxydase demeurent

stables durant le développement postnatal, la taille moyenne de chaque blob peut augmenter d'environ 40% (Purves & LaMantia, 1993).

Le signe le plus impressionnant de croissance postnatale dans V1 concerne le nombre d'épines dendritiques et de synapses. Il est estimé que seulement environ 10% du total du nombre de synapses qui existent dans le cortex visuel humain sont formés à la naissance. Le nombre d'épines dendritiques double pendant la période entre la naissance et six mois chez les humains (Michel & Garey, 1984) ou huit semaines chez les singes (Boothe *et al.*, 1979). Le nombre total de synapses montre une augmentation d'un facteur de quatre durant la même période (Huttenlocher *et al.*, 1982). Dans la couche d'entrée M (couche IVC α), le sommet de densité d'épines est remarqué plus tôt à environ cinq semaines (Lund & Holbach, 1991), et ce moment correspond bien avec la réduction de la longueur moyenne des arbres dendritiques dans ces couches.

Puisque les cellules étoilées épineuses dans la couche IVC sont les récepteurs primaires des entrées géniculostriées, la surproduction d'épines peut marquer le sommet de la période critique pour la réorganisation qui s'étend au-delà de la fin de la ségrégation des afférents spécifiques à chaque œil dans cette couche (LeVay *et al.*, 1980). De plus, il a été rapporté que la fenêtre de temps pour le phénomène de plasticité développemental relié à la préférence oculaire est plus longue dans la couche IVC β comparé à la couche IVC α (LeVay *et al.*, 1980). Cette découverte est consistante avec le fait que le sommet de densité d'épines est atteint plus tard dans la couche d'entrée P (IVC β) que dans la couche d'entrée M (IVC α) (Simos, 2002). Puisque le nombre de neurones corticaux ne changent pas beaucoup après la naissance, l'augmentation rapportée du nombre de synapses doit principalement être dû à l'augmentation du nombre de connexions par neurones. L'expérience visuelle est apparemment l'un des facteurs qui affectent la croissance des processus neuronaux et des synapses dans le cortex visuel. Un exemple est l'augmentation du nombre de dendrites par neurones dans l'aire du cortex visuel durant le développement découvertes chez les rats exposés à des environnements enrichis (Greenough *et al.*, 1985).

Il y a une très faible diminution du nombre de neurones entre la naissance et l'âge adulte, qui est estimé être de l'ordre de 16% chez les primates (O'Kursky & Colonnier, 1982). À la naissance, la densité neuronale a déjà dépassé son sommet et a

commencé à diminuer (Huttenlocher, 1990). Le nombre d'épines dendritiques diminuent pour atteindre un niveau adulte à huit semaines. La diminution du nombre de synapses par neurone et la densité synaptique commence après environ huit semaines chez le singe et huit mois chez les enfants humains, atteignant des niveaux adultes au plus tôt à 36 mois chez les singes (O'Kursky & Colonnier, 1982). L'âge correspondant chez les humains est probablement entre 2 et 3 ans.

1.4.4 Chronologie du développement entre les régions du système visuel

La figure 13 nous montre comment la rétine, le CGLd et V1 se développe selon l'échelle du temps chez le primate. La neurogénèse des neurones du CGLd (voir section précédente) est très courte en comparaison de celles de la rétine et de V1. Cependant, l'ordre du début d'apparition suit leurs positions relatives selon l'axe ventral/dorsal. Les premières cellules à naître au niveau de la rétine sont les cellules ganglionnaires. Par la suite viendront en ordre les cellules horizontales, les cônes, les cellules amacrine et finalement les bâtonnets et les cellules bipolaires. Parallèlement, V1 débutera sa neurogénèse selon un ordre décroissant de ses couches, c'est-à-dire, de la couche VI vers la couche II. (voir la figure 13 et le tableau 1). La couche I de V1 ne contient pas de cellules. Elle est occupée par les dendrites et les axones des cellules situées plus profondément dans le cortex qui passent à travers ou qui forment des connexions dans cette couche (Kandel *et al.*, 2000). Le tableau 1 montre la chronologie des événements mentionnés précédemment en combinaison avec les principaux événements de connexions entre ces trois régions chez l'humain et le singe. Ce tableau se termine avec l'ouverture des yeux vers le 123^e jour de gestation chez le singe. La neurogénèse du CGLd se déroule sur une courte période. Cependant, les neurones du CGLd rentrent assez rapidement en contact avec les axones des CGRs (autour du 48^e jour de gestation) et environ 20 jours plus tard c'est au tour des axones corticaux (67^e jour de gestation). Une autre date importante à retenir est la fin de la production de cellules ganglionnaires de la rétine (57^e jour de gestation). Les axones du CGLd atteignent la sous-plaque lors du 78^e jour de gestation et ces axones atteignent la couche IV de V1 autour 82^e jour de gestation. La perte rapide des axones des nerfs optiques se terminent au 110^e jour de

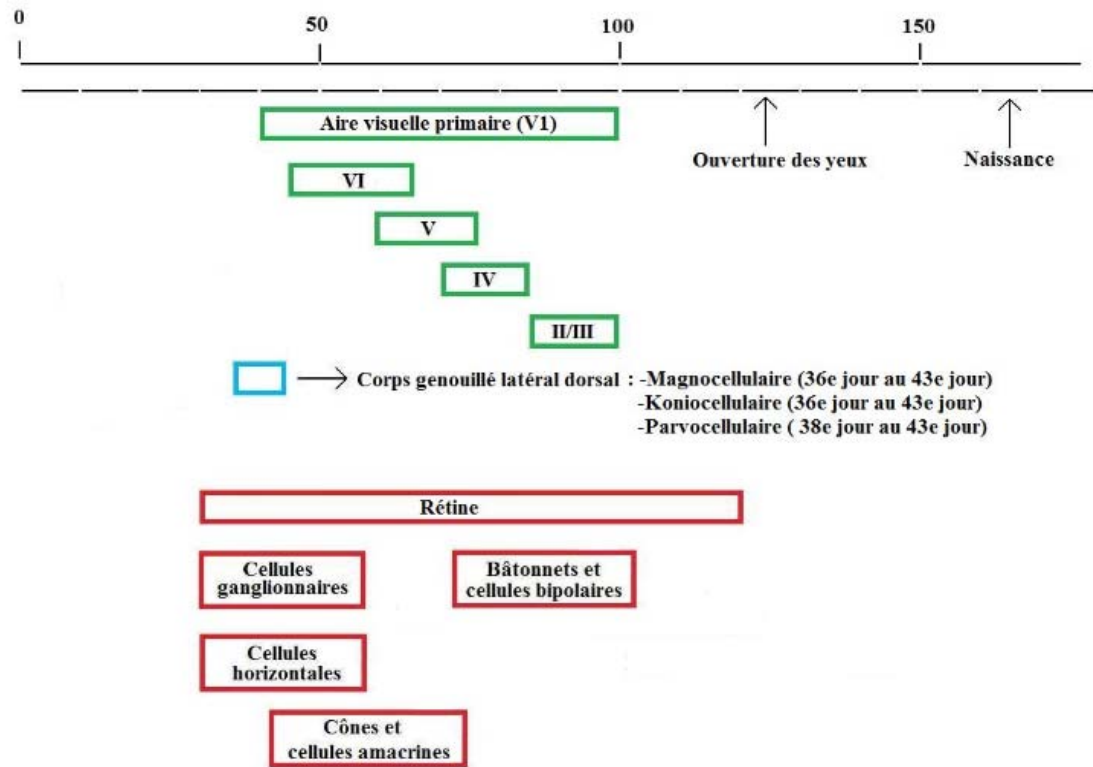


Figure 13- Chronologie de la neurogénèse dans la rétine, le CGLd et V1.

Figure adaptée de Finlay & Clancy, 2008.

Tableau 1- Chronologie des événements du développement du système visuel observés ou prédit chez l'humain et le macaque rhésus (jours après la conception). Tableau adapté de Finlay & Clancy, 2008.

Structure	Évènement	Humain		Singe	
		Prédis	Observés	Prédis	Observés
Rétine	Début-cellule ganglionnaire	38,1		30,8	30
<i>Cortex</i>	Début-sous-plaque	48,2		38,7	39,5
CGLd	Début-CGLd	43		34,6	36
<i>Cortex</i>	Sommet-sous-plaque	54,5		43,6	43
<i>Cortex</i>	Début-Couche corticale VI	57,9		46,3	45
CGLd	Sommet-CGLv	47,9		38,4	
Nerf optique	Axones avancent dans le nerf optique	48,2	51	38,7	
Connexion	Apparition de la capsule interne	60,8	63	48,5	40
CGLd	Sommet-CGLd	50		40,1	43
Nerf optique	Axones du nerf optique au chiasma	50,9		40,8	36
Rétine	Sommet-cellules horizontales	52,4		42	40
CGLd	Fin-CGLd	54,4		43,5	43
<i>Cortex</i>	Début-Couche corticale V	68,6		54,6	58,5
Rétine	Sommet-cellules ganglionnaires	55,6		44,4	43
<i>Cortex</i>	Fin-Sous-plaque	69,8		55,6	48
<i>Cortex</i>	Sommet-couche VI	70,3		56	53
Nerf optique	Les axones rejoignent le CGLd et CS	59,8		47,7	
Nerf optique	Les axones envahissent les centres visuels	63,2	60	50,4	
<i>Cortex</i>	Sommet-couche V	79,7		63,3	70
<i>Cortex</i>	Fin-Lamina VI	80,8		64,2	65

<i>Cortex</i>	Début-Lamina IV	81,2		64,5	70
Rétine	Sommet-Cônes	66,3		52,8	56
Rétine	Sommet-cellules amacrines	69,3		55,2	56
<i>Cortex</i>	Début-Couches II/III	87,4		69,4	85,5
<i>Cortex</i>	Fin-Couche V	87,8		69,7	75
<i>Cortex</i>	Sommet-Couche IV	89,3		70,9	80
Rétine	Fin-Cellules ganglionnaires	72,4		57,6	57
Connexion	Axones du CGLd atteignent les axones corticaux	95,9		76	67
<i>Cortex</i>	Sommet-Couches II/III	100,4		79,6	90
<i>Cortex</i>	Fin-Couches IV	101,7		80,5	85
Nerf optique	Sommet-nombre d'axones	80,9		64,3	69
<i>Cortex</i>	Fin-Couches II/III	110,6		87,5	100
Connexion	Axones corticaux dans le CGLd	111,5		88,2	81,5
Connexion	Axones du CGL dans la couche IV	132,3		104,5	91
Rétine	Bâtonnets-sommet de la neurogénèse	106,9		84,6	85
Rétine	Assaut des vagues rétiniennes	101,3		80,2	
Rétine	Sommet-cellules bipolaires	115,6		91,4	85
Nerf optique	Fin de la perte rapide des axones	123,1		97,3	110
CGLd	Ségrégation ipsi- et contralatéral	124,4	175	98,3	87
Ouverture des yeux	Ouverture des yeux	155,4	158	122,6	123

gestation (Voir le tableau 1).

1.5 Le syndrome de l'alcoolisme fœtal

Le FAS a été décrit pour la première fois dans la littérature médicale en France par Lemoine *et al.* en 1968. Les caractéristiques les plus évidentes sont une masse réduite de leur corps, des malformations cranio-faciales, des troubles de comportement et des déficiences intellectuelles chez les enfants nés de mères qui consommaient de grandes quantités d'alcool durant leur grossesse. Quelques années plus tard des chercheurs américains ont publié un rapport qui décrivait une longue liste de défauts à la naissance chez les enfants nés de mères alcooliques (Jones *et al.* 1973). L'ensemble des troubles du FAS s'accapare une place importante dans les maladies développementales que l'on pourrait prévenir dans notre société (Riley & McGee, 2005).

Les lésions développementales du système nerveux ont une période prolongée de susceptibilité qui s'étend au-delà de l'organogénèse (de la naissance à la 8^e semaine chez l'humain). La période qui commence d'environ la 9^e semaine jusqu'à la 40^e semaine est communément appelée la période fœtale. L'exposition toxique durant la période fœtale n'occasionne pas de malformations structurelles (Stratton *et al.*, 1996). Cependant, une telle exposition peut provoquer des dommages au développement du système nerveux central (souvent présent comme troubles neurocomportementaux). Ceux-ci varieront selon le ou les étapes du développement du système nerveux qui sera ou seront exposées à l'alcool. Le troisième trimestre chez les primates est une période critique pour la synaptogénèse, la gliogénèse et la maturation du système visuel (Stanley, 1991).

1.5.1 Les effets sur le système visuel

Environ 90% des enfants atteints du FAS ont des symptômes qui perturbent leur système visuel. Les symptômes peuvent inclure une augmentation de la tortuosité des vaisseaux sanguins, une myopie sévère, une hypermétropie modérée, du strabisme et une hypoplasie du nerf optique (Strömland & Pinazo-Duran, 2002). Une récente étude a observé la présence d'anomalies dans le système visuel d'enfants âgés de 4 à 9 ans qui

ont été exposés à de fortes quantités d'alcool durant la gestation (Flanigan *et al.*, 2008). Cette étude a conclu que les anomalies du système visuel étaient plus présentes chez les enfants qui présentaient des malformations cranio-faciales. Possiblement, ces enfants ayant des malformations cranio-faciales ont été exposés à de plus fortes concentrations d'alcool durant l'organogénèse. Une récente étude a également mis en évidence que les enfants exposés à l'alcool obtenaient des résultats inférieurs lors de tâches visant à mesurer l'intégrité des mouvements oculaires (Green *et al.*, 2009). Cette étude suggère qu'il y aurait des mauvais fonctionnements au niveau du ganglion de la base et du cortex frontal et pariétal qui perturberaient le contrôle des mouvements oculaires par le CS (Green *et al.*, 2009).

1.6 But de notre étude

Les effets d'une forte exposition à l'alcool lors du développement du système nerveux chez le primate sont nombreux. Cependant, il existe très peu d'études qui se sont intéressées spécifiquement aux séquelles sur le système visuel. Une seule étude à notre connaissance a rapporté une perte de neurones dans la rétine suite à une exposition prénatale chez le singe (Clarren *et al.*, 1990). Le CGLd reçoit la majorité de ses connexions entrantes des CGRs. Une diminution dans la population des CGRs devrait alors entraîner une diminution correspondante dans le CGLd dû au fait que ce noyau thalamique est le premier relai visuel et qu'il reçoit la majorité de ses intrants de la rétine. Le but de cette étude est d'investiguer l'existence de changements dans la population de neurones (M et P) du CGLd des primates non-humains à la suite d'une exposition modérée à l'alcool durant la gestation. Pour atteindre cet objectif, nous avons utilisé des singes qui consomment de l'alcool volontairement et nous avons étudié, par le biais de la stéréologie, l'organisation anatomique des couches M et P de leur progéniture. Étant donné les similitudes entre le développement et l'organisation du système visuel du singe et de l'humain, les résultats de cette étude permettront de mieux comprendre les effets d'une faible exposition prénatale à l'alcool sur la fonction visuelle.

Chapitre 2

Article

**Stereological analysis of the dorsal lateral
geniculate nucleus of the monkey
following prenatal alcohol exposure.**

2. Article

Stereological analysis of the dorsal lateral geniculate nucleus of the monkey following prenatal alcohol exposure.

Papia, M.F.^a; Burke, M.W.^b; Palmour, R.M.^{c,d,e}; Ervin, F.R.^{c,e}; Ptito, M.^{a,b}

^aÉcole d'optométrie, ^bDépartement de physiologie, Université de Montréal,
^cDépartement de psychiatrie, ^dDépartement de génétique humaine, Université McGill,
Montréal, Québec, Canada et ^eFondation de la science du comportement, St. Kitts/Nevis.

Correspondence should be addressed to:

Maurice Ptito, PhD., MD
École d'Optométrie, 260-7,
3744 Jean-Brillant,
Université de Montréal,
Montréal, Québec, Canada, H3T 1P1
Tel: (514) 343-6052
Fax: (514) 343-2382

2.1 Abstract

Visual impairment is commonly reported as a consequence of heavy prenatal ethanol exposure. These children display characteristic cranio-facial dysmorphology and are typically severe cases of fetal alcohol syndrome (FAS). Binge-like rodent model systems have concluded that third trimester equivalent ethanol exposure results in widespread apoptosis in the visual system from the retina to the visual cortex. Neither clinical nor animal studies address the consequences of more moderate prenatal ethanol exposure on the visual system. The current study uses a naturalistic and voluntary consumption approach in the non-human primate (*Chlorocebus aethiops sabeus*) in order to more closely model prenatal ethanol consumption patterns in humans. Pregnant vervets were allowed to drink the equivalent of 3–5 standard drinks four times a week during the third trimester. Using unbiased stereology, we estimated the neuronal population of the parvocellular (P) and magnocellular (M) subregions of the lateral geniculate nucleus (LGN) of neonatal fetal alcohol spectrum disorder (FASD) subjects. The volume and total number of neurons in the LGN of the FASD subjects were not significantly different from age matched control subjects. The M neuronal size of FASD subjects however was significantly reduced resembling the size of the P neurons. These results suggest that alterations of the M pathway might lead to behavioural deficits associated with the integrity of the dorsal visual pathway but further studies are necessary to verify this hypothesis.

2.2 Introduction

FAS, a consequence of heavy maternal drinking during organogenesis, is readily recognizable in the form of distinct facial dysmorphologies such as microcephaly, indistinct philtrum and low nasal bridge (Streissguth *et al.*, 1994). These dysmorphologies typically are a consequence of a high level of prenatal alcohol exposure, but there are neurodevelopmental problems associated with more moderate exposure, the so-called non-dysmorphic FAS (Streissguth *et al.*, 1994; Riley *et al.*, 2004; Riley & McGee, 2005). Both dysmorphic and non-dysmorphic FAS children display

alcohol-related neurodevelopmental problems and can be grouped under the umbrella term FASD. The prevalence of FASD has been estimated to be between 1- 4% of live births (Sampson *et al.*, 1997; Sidhu & Floyd, 2002; Colvin *et al.*, 2007; Kristjanson *et al.*, 2007) with up to 13% of pregnant women drinking moderate amounts of ethanol during pregnancy (Sidhu & Floyd, 2002; Bertrand *et al.*, 2004) making fetal alcohol exposure a leading cause of preventable developmental disorders (Mattson *et al.*, 2001).

It has been estimated that up to 90% of FAS children have ocular manifestations. Although no single visual abnormality can be considered as a defining characteristic of FAS, there are a number manifestations of prenatal ethanol exposure in the visual system. Increased tortuosity of the retinal vessels (49%), suboptimal vision ranging from severe myopia to moderate hyperopia (65%), strabismus (43%) and hypoplasia of the optic nerve (48%) are commonly reported in FAS children (Cook *et al.*, 1987; Strömland, 1985; Strömland & Pinazo-Durán, 2002). A recent clinical study that examined children aged between 4 and 9, concluded that the risks of visual deficits are limited to children who were exposed to high levels of prenatal ethanol and developed facial dysmorphologies (Flanigan *et al.*, 2008).

Rodent models of FAS suggest widespread apoptosis throughout the visual system following binge-like exposure (Tenkova *et al.*, 2003). In clinical cases, magnetic resonance imaging (MRI) studies have found an overall reduction in brain size (Spadoni *et al.*, 2007) of FASD individuals. There is no clear reduction in size of the thalamus and the occipital cortex (Archibald *et al.*, 2001), but some abnormalities have been found in the thalamus by using positron emission tomography (PET) (Clark *et al.*, 2000). These PET abnormalities could indicate a selective toxic alcohol effects that may be either region or cell specific. Neither clinical nor animal model systems address the effects of the more common moderate prenatal ethanol exposure on the visual system.

The use of non-human primates provides an excellent translational model for our understanding of developmental processes in humans (Riley & McGee, 2005) given the developmental similarities between monkey and man (Garey & de Courten, 1983). Few studies have taken advantage of the non-human primate as a model of FASD, especially concerning the effects of moderate prenatal alcohol exposure on the visual system. Weekly binge-like exposure throughout pregnancy in the non-human primate is reported

to result in cell loss in the retinal ganglion layer in a subset of subjects (Clarren *et al.*, 1990). In both clinical and animal model systems the effects of prenatal ethanol exposure in the LGN and in the higher regions of the visual system were not specifically examined.

This study takes advantages of moderate and naturalistic drinking patterns in the vervet monkey (*Chlorocebus aethiops*) to model the type of exposure frequently reported in human epidemiological investigations (Tsai & Flood, 2002). We tested the hypothesis that offspring of alcohol-preferring vervet monkeys exposed to ethanol during the last half of pregnancy would have an altered neuronal population in the LGN at birth.

2.3 Materials and methods

2.3.1 Maternal ethanol exposure

Healthy adult female vervet monkeys (*Chlorocebus aethiops sabeus*) were screened for voluntary ethanol consumption. Females that reliably drank at least 2g ethanol/kg body weight in a 4-h scheduled period were selected for the study according to Burke *et al.* (2009a). Females were monitored behaviourally and physically for evidence that pregnancy was initiated, then examined every month for timing of gestation.

At about embryonic day 89 of the normal 165-day gestational period, pregnant females were given access to a maximum of 3 g ethanol/kg body weight (or an isocaloric sucrose control mixture) at 9 am on 4 days of the week (Monday, Tuesday, Thursday, Friday) according to Burke *et al.* (2009a). Ethanol was prepared as a 10% v/v solution and presented in a calibrated drinking bottle. Tap water was always concurrently available. The ethanol bottle was monitored every hour, and remained available for a 4-h period. At the end of the 4-h drinking period, the drinking bottle was removed and the quantity consumed was recorded. During drinking periods, each animal occupied an individual compartment adjacent to the group cage. After parturition, the consumption level for each mother was calculated on the basis of the total volume of ethanol consumed and expressed as g/kg body weight/drinking day, as well as total exposure

(g/kg) over the gestational period. Blood (1 ml, saphenous vein) was drawn without anesthesia at the end of the drinking period during weeks 2, 4, 6, and 8 for the measurement of blood ethanol level (alcohol dehydrogenase method, Sigma). None of the offspring produced in this manner had facial dysmorphology.

Animals were housed socially in the laboratories of Behavioural Sciences Foundation, St Kitts in enriched environments. The animals were fed Harlan Teklad high-protein primate chow (5% body weight/day) and fresh local fruit, with water available ad libitum. The experimental protocol was reviewed and approved by the McGill University Animal Care and Use Committee and the Institutional Review Board of Behavioural Science Foundation.

2.3.2 Ethanol-exposed offspring

The neonatal monkey is estimated to have the same neurodevelopmental equivalency to a late term/neonatal human (Clancy *et al.*, 2001). In the current study 6 neonate alcohol-exposed animals (5 m, 1 f) and 5 neonate sucrose-control (5 m) animals were chosen for neuro-anatomical evaluation (Table 1). All offspring remained with their mothers in group housing until they are sacrificed.

After euthanasia and thoracotomy, each animal was perfused transcardially with phosphate buffer saline (PBS), followed by 4% paraformaldehyde. The brains were extracted, stereotaxically blocked into 1-cm slabs in the coronal plane, cryoprotected in 30% buffered sucrose, and frozen at -80°C until further processing (Burke *et al.*, 2009b). Six parallel series of coronal sections (50 μm) were obtained for each animal. One series was Nissl stained with cresyl-violet for microscopic examinations. Other series were placed in antigen preserve (50% ethylene glycol, phosphate buffer solution, and 1% polyvinyl pyrrolidone) and stored at -20°C for future processing (Burke *et al.*, 2009c).

2.3.3 Stereology

Unbiased estimation of neuron numbers and volume was achieved by using the optical fractionator method (West *et al.*, 1991). Topography and superimposed counting frames (disectors) were generated through Stereologer software under 2.5x (topography) and 100x oil immersion (counting) objectives. The lateral geniculate nucleus is readily identifiable as a six-layer structure dorsal to the hippocampal formation (Paxinos *et al.*, 2001; Figure 1). For the stereological parameters in this study every 12th section was selected with a random starting point within 1mm of the anterior tip that yielded a systematic-uniform set sample of 9-11 sections. The LGN was sampled into its subdivisions: M (layers 1-2) and P (layers 3-6). Total reference volume (V) was achieved using the Cavalieri point counting method. The reference volume is not used to estimate neuronal numbers so that these measurements are independent of shrinkage.

The total estimation of cell numbers (N) was calculated by the following equation:

$$N = ssf^{-1} \times asf^{-1} \times tsf^{-1} \times \sum Q^{-}$$

where ssf is the section sampling fraction, asf is the area sampling fraction, tsf is the thickness-sampling fraction (where the measured thickness of the tissue is divided by the disector height), and $\sum Q^{-}$ is the total number of cells counted within the disector. For this study, a neuron was defined as having visible centrally located nucleoli and clearly defined cytoplasm, whereas glial cells, which are more heterogeneous than neurons, generally lacked visible nucleoli and cytoplasm (Joelving *et al.*, 2006; Boire *et al.*, 2002; Burke *et al.*, 2009a,d,e). Coefficients of error (CE) were calculated for mean number of neurons ($\sum Q^{-}$), total number of disectors ($\sum F$), and total number of cells (N) to assess the reliability of measurements (Gundersen & Jensen, 1987; West & Gundersen, 1990). As the CE represents intrinsic methodological uncertainty, its contribution to observed variation (CV) should be less than its contribution to biological variation (BCV). The ratio BCV^2/CV^2 , where $BCV^2 = CV^2 - \text{mean } CE^2$ and $CV^2 = BCV^2 + CE^2$, was used to

determine the precision of the estimates (West *et al.*, 1991). A ratio BCV^2/CV^2 of more than 0.5 indicates acceptable stereological precision (Joelsing *et al.*, 2006).

Neuronal volume was determined using the Isotropic-Uniform-Random (IUR) nuclear rotator parameter of the Stereologer system. Neurons that were counted for total population estimation was sampled for cell volume. Mean cell volume (MCV) was determined based on the following equation:

$$MCV = \text{mean } l^3 \times 4\pi/3$$

Where l is the length of the line proportional to the area of the object (Mouton *et al.*, 1994). Coefficients of error (CE) were calculated for MCV.

2.3.4 Statistical analysis

Statistical differences were determined using a two-tailed Mann-Whitney non-parametric test of significance on the GraphPad InStat3 program (La Jolla, California, USA). The coefficient of variation ($CV=SD/\text{mean}$), presented in parentheses, was calculated for volume and neuronal number. The CE for the different measurements was calculated as $(\text{mean CE}^2)^{1/2}$.

2.4 Results

A standard x-y grid size of 100 μm was used to calculate P and M regions. This grid size yielded an average of x and y points for the FASD and x and y points for the control subjects for the M and P regions respectively. The average M regional volume was not statistically different between FASD 3.87mm³ ($CV=0.16$) and control 3.3mm³ ($CV=0.24$) subjects ($p=0.66$). Likewise, the P regional volume did not differ between FASD 12.6mm³ ($CV=0.07$) and control 12.1mm³ ($CV=0.21$) subjects ($p=0.69$; Figure 1).

For neuronal estimations in the M region a standard x-y grid size of 500 μm yielded an average of 68.5 ($CV=0.14$) and 64.8 ($CV=0.14$) optical disectors (ΣF)

distributed over 9 sections for FASD and control subjects respectively. The surface area of each disector was set at $1200\mu\text{m}^2$ with a disector height of $10\mu\text{m}$. The volume of the disector was chosen such that an average of 1-2 neurons (Q-) would be counted per counting frame in the FASD subjects. After tissue processing, the average measured thickness was $15.39\mu\text{m}$ (CV=0.12) and $14.86\mu\text{m}$ (CV=0.08) yielding an average tsf of 0.657 (CV=0.12) and 0.6766 (CV=0.086) in FASD and control subjects respectively (Table 2). An average of 98 neurons in the control group and 109 neurons in the FASD group were counted across the disectors. The total average number of neurons in the M region was not statistically different between FASD subjects, 417467 (CV=0.17), and control, 318003 (CV=0.157), subjects ($p=0.052$; Figure 2). The average CE for the number of neurons was 0.104 for the control group and 0.098 for the FASD group indicating an acceptable variation for this sampling scheme.

Neuronal estimations in the P region was determined by using standard x-y grid size of $750\mu\text{m}$ yielding an average of 117 (CV=0.087) and 116 (CV=0.11) optical disectors (ΣF) distributed over 9 sections for FASD and control subjects respectively. The surface area of each disector was set at $1200\mu\text{m}^2$ with a disector height of $10\mu\text{m}$. The volume of the disector was chosen such that an average of 1-2 neurons (Q-) would be counted per counting frame in the FASD subjects. After tissue processing, the average measured thickness was $14.42\mu\text{m}$ (CV=0.087) and $13.98\mu\text{m}$ (CV=0.09) yielding an average tsf of 0.699 (CV=0.088) and 0.7205 (CV=0.10) in FASD and control subjects respectively (Table 3). An average of 209 neurons in the control group and 218 neurons in the FASD group were counted across the disectors. The total average number of neurons in the P region was not statistically different between FASD subjects, 1761970 (CV=0.087), and control, 1579554 (CV=0.098), subjects ($p=0.0556$; Figure 2). The average CE for the number of neurons was 0.07 for the control group and 0.067 for the FASD group indicating an acceptable variation for this sampling scheme. The estimation of neurons produced an average BCV^2/CV^2 ratio of 0.55 indicating an acceptable sampling error and an estimate of the neuronal population of the lateral geniculate nucleus.

Neuronal volume was determined by randomly placing a standard grid size of $500\mu\text{m}$ (x-y plane) for M and $750\mu\text{m}$ (x-y step) for P region on every 12th section

through the LGN. At each intersection of the grid an optical disector was positioned and an IUR nuclear rotator was placed on neurons that fell within the parameters of the disector were sampled. An average of 110 and 90 neurons were measured for FASD and control subjects respectively in the M region. The average neuronal volume between FASD, $2377.1\mu\text{m}^3$ (CV=0.144), was significantly smaller than that of control, $2856.8\mu\text{m}^3$ (CV=0.068), subjects ($p=0.0303$; Figure 3 and Figure 4C-D). An average of 215 and 206 neurons were measured for FASD and control subjects respectively in the P region. The average neuronal volume between FASD, $1892.3\mu\text{m}^3$ (CV=0.246), did not significantly differ from that of control, $2222.6\mu\text{m}^3$ (CV=0.18), subjects ($p=0.421$; Figure 3 and Figure 4A-B). Within the control group the neuronal volume of the P versus the M region is significantly smaller ($p=0.0159$) whereas the neuronal volumes between these two regions do not differ in the FASD group ($p=0.0823$). The average CE for all neuronal volume estimates was below 0.02 indicating an acceptable variation for this sampling scheme.

2.5 Discussion

The benefit of using the non-human as a translational model is that the naturalistic alcohol consumption can be monitored and thereby provides a controlled environment in which to study the effects of fetal alcohol exposure. In FASD offspring there were no significant difference in the number of neurons and in the overall volume at birth in both regions of the LGN after prenatal ethanol exposure. However the neuronal volume in the M subdivision was significantly reduced by 17% compared to control values. We have found an average of 2,179,347 and 1,897,557 neurons respectively in the FASD and the controls. The results reported here for both groups resemble the total number of neurons previously reported in *Macaca nemestrina* monkeys (Blasco *et al.*, 1999).

In the non-human primate, neurogenesis of geniculate neurons is completed between embryonic (E) day 35 and E45 (Rakic, 1977). During this short period of neurogenesis there is an overproduction of neurons in the LGN. Excess neurons, up to 40%, are eliminated by the process of apoptotic pruning during the middle third of

gestation through to adulthood (Hamburger, 1975; Cowan & Clarke, 1976; Landmesser & Pilar, 1978; Williams & Rakic, 1988). The majority of this normal elimination process occurs prenatally with the peak elimination occurring between E70-E110 (Williams & Rakic, 1988; Davies, 2003). The subjects in this study were initially exposed to alcohol at the end of the second trimester and throughout the third trimester, during the proposed peak of neuronal elimination (Williams & Rakic, 1988). The lack of difference in total number of LGN neurons in the FASD subjects raises the possibility that prenatal ethanol exposure interferes with normal pruning process.

Rodent studies suggest that the thalamic areas are affected differently from other brain areas in response to prenatal ethanol exposure. Apoptotic proteins Bax, caspase-3 (apoptotic inducers) and Bcl-2 are (apoptotic inhibitor) are differentially expressed in the rodent brain following prenatal ethanol exposure. Throughout the cortex, prenatal ethanol exposure reduces Bcl-2 protein expression while elevating caspase-3 protein expression throughout the cortex (Mooney & Miller, 2001). The level of Bax was unaffected but the ratio of Bcl-2/Bax cortical expression was significantly reduced following prenatal ethanol exposure. In contrast, Bax, Bcl-2 and caspase-3 protein expression are unaltered in thalamic nuclei with no change in Bcl-2/Bax ratio (Mooney & Miller, 2001). Total neuronal and volume of the thalamus are also unaltered in rodents exposed to prenatal ethanol during the second and third trimester equivalents (Livey *et al.*, 2001). Furthermore layer IV, the main recipient of thalamic input (Wise & Jones, 1978; Frost & Caviness, 1980), shows normal thickness and cell packing density following prenatal ethanol exposure (Miller & Dow-Edwards, 1988; Miller & Potempa, 1990). These rodent data suggest that the thalamus does not undergo a wave of programmed neuronal death induced by prenatal ethanol, as is the case with other brain areas (Mooney & Miller, 2001).

The unchanged number of neurons reported here maybe due to an elevated level of neurotrophins induced by alcohol exposure (Davis, 2008). Neurotrophins are important regulators of neural survival (Huang & Reichardt, 2001) and prenatal ethanol exposure has been reported to alter these factors (Moore *et al.*, 2004). Typically prenatal ethanol exposure lowers the level of neurotrophins in the cortex, but in the more developmentally mature LGN the opposite may be true (Karacay *et al.*, 2008).

Experiments in rodents have found that a high level of alcohol triggers widespread apoptosis during the gestation by two mechanisms: First, the blockade of the glutamate transmission and second, the excessive stimulation of GABA transmission (Ikonomidou *et al.*, 2000). Nerve growth factor (NGF) binds to TrkA receptors (neurotrophic) and P75 (NTR) (apoptosis or other pathways depending on the coupled adaptor proteins). Brain derived growth factor (BDNF) can bind to TrkB (neurotrophic) and P75 (NTR) receptors. BDNF is the main, activity-dependent, neurotrophin and sculpts neuronal organization dependent on activity, thereby coupling and balancing effects on excitatory (glutamate) and inhibitory (GABA) transmission in a synapse-specific manner (Spedding & Gressens, 2008). Others unknown mechanisms of neurons survival could be present in the LGN that could protect the neurons population from the effects of ethanol seen in others brain regions (Burke *et al.*, 2009a).

The number of neurons in the visual cortex depends on the number of neurons in the LGN (Stevens, 2001) but, the influence of LGN on the visual cortex population is already completed before the monkeys begin to be exposed to ethanol (Dehay *et al.*, 2001). During development LGN axons wait in the subplate zone below visual cortex for an extended period of time before growing into the cortical plate (Ghosh & Shatz, 1992). This period has been called the “waiting period” and has been found to be a common feature of many axonal systems growing into the cortex (Ghosh & Shatz, 1992). Therefore, before the M division innervates the upper half of layer 4C, 4C α , and the P layers innervate the lower half, 4C β , they are in contact with the interstitial neurons. If there is an alteration in the visual cortex, this alteration should be a direct effect of ethanol and not by a lack of neurotrophic and/or neuronal activity support by the LGN (Catalano & Shatz, 1998; Dehay *et al.*, 2001; Ghosh, 1996).

The M neurons in ethanol exposed subjects are smaller than control subjects (fig. 3). At around the 24th week of gestation in human (around E100 in monkey), there are no obvious differences between cells size in the M and P layers (Hitchcock & Hickey, 1980). Gliogenesis occurs during the last trimester of gestation and gliogenesis is perturbed by ethanol exposure (Guerri *et al.*, 2001). Astrocytes are important for the maturation of neurons because they release neurotrophic factors (Aronne *et al.*, 2008). Since the M neurons are the first to mature (Hitchcock & Hickey, 1980), it is then

normal that a lack in neurotrophic factors would show the effects in this population for first.

The M system is responsible for the “where” of an object (i.e. the position and the movement of an object) whereas the P system deals with the “what” of the object (i.e. the form and the color of object, the identification of the scene). Since a large cellular body means thicker axons, and thicker axons means faster conduction velocities (Galaburda & Livingstone, 1993), a difference in the size of M neurons would potentially have repercussions for the visual system. The larger size of M neurons allows for information from the M system to precede the information from the P system to the visual cortex and it has been demonstrated that the M pathway provides the predominant input to the visual pathway (Steinman *et al.*, 1997). This delay of information between the two systems allows the visual system to first rapidly locate objects and then to identify them (Steinman & Steinman, 1998). The reduced size of the M neurons in these subjects would potentially result in the M pathway.

Breitmeyer & Ganz (1976) hypothesized that the M pathway could play a direct role in directing selective attention during the reading task. This model proposes that the role of visual attention is to shift attention from the fixation point to the parafoveal region to the right of fixation so that the saccade may be programmed (Steinman *et al.*, 1998). A shift in visual attention is necessary before a refixation may be executed (Sereno, 1992) and the M pathway contributes an important input to the visual attention mechanisms (Steinman *et al.*, 1997). These mechanisms also depend substantially upon neurons in the posterior parietal cortex, a major endpoint of the M pathway (Hussain, 1991). The posterior parietal cortex has heavy connections with the frontal eye fields and the intermediate layers of the superior colliculus, both important for saccadic eye movements (Mowafy *et al.*, 1990). These studies propose that the M pathway may influence the planning of saccadic eye movements during the reading task by means of an intermediate pathway, the visual attention mechanisms (Steinman *et al.*, 1998). A recent study has shown that children that were exposed to alcohol get lower results during a task that measure eye movement (Green *et al.*, 2009). It is then possible that the lack in oculomotor control (Green *et al.*, 2009) seen in these children could be, at the least partially, a consequence of a defect in the M pathway.

2.6 Conclusion

The data presented here demonstrate that a regular and voluntarily consumption of alcohol during the third trimester, at doses which do not cause overt intoxication, do not change the number of neurons in both the P and M regions of the LGN. There is a volume reduction of the M neurons that could be explained by a possible diminution of neurotrophic factors released by astrocytes. Further experiments need to be realized to see what happen with vision capacities. This study shows that not all regions of the brain are affected in the same manner by low or moderate ethanol exposure. The visual system is affected by small amount of ethanol but the effects are different than in the frontal cortex (Burke *et al.*, 2009a).

2.7 References

- Archibald SL, Fennema-Notestine C, Gamst A, Riley EP, Mattson SN & Jernigan TL. (2001) Brain dysmorphology in individuals with severe prenatal alcohol exposure. *Dev Med Child Neurol.* 43: 148-54.
- Aronne MP, Evrard SG, Mirochnic S & Brusco A. (2008) Prenatal ethanol exposure reduces the expression of the transcriptional factor *Pax6* in the developing rat brain. *Ann NY Acad Sci.* 1139:478-97.
- Boire D, Théoret H & Ptito M. (2002) Stereological evaluation of neurons and glia in the monkey dorsal lateral geniculate nucleus following an early cerebral hemispherectomy. *Exp Brain Res.* 142:208-20.
- Breitmeyer BG & Ganz L. (1976) Implications of sustained and transient channels for theories of visual pattern masking, saccadic suppression, and information processing. *Psychol Rev.* 83:1-36.
- Burke MW, Palmour RM, Ervin FR & Ptito M. (2009a) Neuronal reduction in frontal cortex of primates after prenatal alcohol exposure. *Neuroreport.* 20(1):13-7.
- Burke MW, Zangenehpour S & Ptito M. (2009b). Brain banking: making the most of your research specimens. *J Vis Exp.* 29:1260.

- Burke MW, Zangenehpour S, Boire D & Ptito M. (2009c). Dissecting the non-human primate brain in stereotaxic space. *J Vis Exp.* 29:1-5.
- Burke MW, Zangenehpour S, Bouskila J, Boire D & Ptito M. (2009d). The Gateway to the brain: Dissecting the primate eye. *J Vis Exp.* 27:1261.
- Burke MW, Zangenehpour S, Mouton PR & Ptito M. (2009e). Knowing what counts: Unbiased stereology in the non-human primate brain. *J Vis Exp.* 27:1262.
- Catalano SM & Shatz CJ. (1998) Activity-dependent cortical target selection by thalamic axons. *Science.* 281:559-62.
- Clancy B, Darlington RB & Finlay BL. (2001) Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience.* 105(1):7-17.
- Clark CM, Li D, Conry J, Conry R & Loock C. (2000) Structural and functional brain integrity of fetal alcohol syndrome in nonretarded cases. *Pediatrics.* 105(5):1096-9.
- Clarren SK, Astley SJ, Bowden DM, Lai H, Milam AH, Rudeen PK & Shoemaker WJ. (1990) Neuroanatomic and neurochemical abnormalities in nonhuman primate infants exposed to weekly doses of ethanol during gestation. *Alcohol Clin Exp Res.* 14(5):674-83.
- Colvin L, Payne J, Parsons D, Kurinczuk JJ & Bower C. (2007) Alcohol consumption during pregnancy in nonindigenous west Australian women. *Alcohol Clin Exp Res.* 31(2):276-84.
- Cook CS, Nowotny AZ & Sulik KK. (1987) Fetal alcohol syndrome. Eye malformations in a mouse model. *Arch Ophthalmol.* 105(11):1576-81.
- Cowan WM & Clarke PG. (1976) The development of the isthmo-optic nucleus. *Brain Behav Evol.* 13(5):345-75.
- Davies AM. (2003) Regulation of neuronal survival and death by extracellular signals during development. *EMBO J.* 22(11):2537-45.
- Davis MI. (2008) Ethanol-BDNF interactions: still more questions than answers. *Pharmacol Ther.* 118(1):36-57.
- Dehay C, Savatier P, Cortay V & Kennedy H. (2001) Cell-cycle kinetics of neocortical precursors are influenced by embryonic thalamic axons. *J Neurosci.* 21(1):201-14.

- Flanigan EY, Aros S, Bueno MF, Conley M, Troendle JF, Cassorla F & Mills JL. (2008) Eye malformations in children with heavy alcohol exposure in utero. *J Pediatr.* 153(3):391-5.
- Floyd RL & Sidhu JS. (2004) Monitoring prenatal alcohol exposure. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 127C(1):3-9.
- Frost DO & Caviness VS Jr. (1980) Radial organization of thalamic projections to the neocortex in the mouse. *J Comp Neurol.* 194(2):369-93.
- Galaburda A & Livingstone M. (1993) Evidence for a magnocellular defect in developmental dyslexia. *Ann NY Acad Sci.* 14:70-82.
- Garey LJ, de Courten C. (1983) Structural development of the lateral geniculate nucleus and visual cortex in monkey and man. *Behav Brain Res.* 10(1):3-13.
- Ghosh A & Shatz CJ. (1992) Pathfinding and target selection by developing geniculocortical axons. *J Neurosci.* 12(1):39-55.
- Ghosh A. (1996) Cortical development: With an eye on neurotrophins. *Curr Biol.* 6(2):130-3.
- Green CR, Mihic AM, Brien DC, Armstrong IT, Nikkel SM, Stade BC, Rasmussen C, Munoz DP & Reynolds JN. (2009) Oculomotor control in children with fetal alcohol spectrum disorders assessed using a mobile eye-tracking laboratory. *Eur J Neurosci.* 29(6):1302-9.
- Guerri C, Pascual M & Renau-Piqueras J. (2001) Glia and fetal alcohol syndrome. *Neurotoxicology.* 22(5):593-99.
- Gundersen HJ & Jensen EB. (1987) The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc.* 147(Pt 3):229-63.
- Hamburger V. (1975) Cell death in the development of the lateral motor column of the chick embryo. *J Comp Neurol.* 160(4):535-46.
- Hitchcock PF & Hickey TL. (1980) Prenatal development of the human lateral geniculate nucleus. *J Comp Neurol.* 194(2):395-411.
- Huang EJ & Reichardt LF. (2001) Neurotrophins: Roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci.* 24:677-736.
- Hussain M. (1991) Visuospatial and visuomotor functions of the posterior parietal lobe. In: Stein JF, ed. *Vision and Visual Dyslexia*. Boca Raton, FL: CRC Press, 12-43.

- Ikonomidou C, Bittigau P, Ishimaru MJ, Wozniak DF, Koch C, Genz K, Price MT, Stefovská V, Hörster F, Tenkova T, Dikranian K & Olney JW. (2000) Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and fetal alcohol syndrome. *Science*. 287(5455):1056-60.
- Joelving FC, Billeskov R, Christensen JR, West M & Pakkenberg B. (2006) Hippocampal neuron and glial cell numbers in Parkinson's disease – A stereological study. *Hippocampus*. 16:826-33.
- Karaçay B, Li S & Bonthius DJ. (2008) Maturation-dependent alcohol resistance in the developing mouse: cerebellar neuronal loss and gene expression during alcohol-vulnerable and -resistant periods. *Alcohol Clin Exp Res*. 32(8):1439-50.
- Kristjanson AF, Wilsnack SC, Zvartau E, Tsoy M & Novikov B. (2007) Alcohol use in pregnant and nonpregnant Russian women. *Alcohol Clin Exp Res*. 31(2):299-307.
- Landmesser L & Pilar G. (1978) Interactions between neurons and their targets during in vivo synaptogenesis. *Fed Proc*. 37(7):2016-22.
- Mattson SN, Schoenfeld AM & Riley EP. (2001) Teratogenic effects of alcohol on brain and behavior. *Alcohol Res Health*. 25(3):185-91.
- Mattson SN, Riley EP, Jernigan TL, Garcia A, Kaneko WM, Ehlers CL & Jones KL. (1994) A decrease in the size of the basal ganglia following prenatal alcohol exposure: a preliminary report. *Neurotoxicol Teratol*. 16:283-9.
- Miller MW & Dow-Edwards DL. (1988) Structural and metabolic alterations in rat cerebral cortex induced by prenatal exposure to ethanol. *Brain Res*. 474:316-26.
- Miller MW, Potempa G. (1990) Numbers of neurons and glia in mature rat somatosensory cortex: effects of prenatal exposure to ethanol. *J Comp Neurol*. 293(1):92-102.
- Mooney SM & Miller MW. (2001) Effects of prenatal exposure to ethanol on the expression of bcl-2, bax and caspase 3 in the developing rat cerebral cortex and thalamus. *Brain Res*. 911:71-81.
- Moore DB, Madorsky I, Paiva M & Heaton MB. (2004) Ethanol exposure alters neurotrophin receptor expression in the rat central nervous system: Effects of neonatal exposure. *J Neurobiol*. 60(1):114-26.

- Mowafy L, Lappin JS, Anderson BL & Mauk DL. (1990) Temporal factors in coherent motion perception. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 31(suppl):520.
- Paxinos G, Huang XF & Toga AW. (1999) *Rhesus monkey brain in stereotaxic coordinates*. Elsevier & Academic Press, Amsterdam, 264p.
- Rakic P. (1977) Genesis of the dorsal lateral geniculate nucleus in the rhesus monkey: site and time of origin, kinetics of proliferation, routes of migration and pattern of distribution of neurons. *J Comp Neurol.* 176(1):23-52.
- Riley EP, McGee CL & Sowell ER. (2004) Teratogenic effects of alcohol: a decade of brain imaging. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 127C(1):35-41.
- Riley EP & McGee CL. (2005) Fetal alcohol spectrum disorders: an overview with emphasis on changes in brain and behavior. *Exp Biol Med (Maywood).* 230(6):357-65.
- Sampson P, Streissguth A, Bookstein F, Little R, Clarren S, Dehaene P, Hanson JW & Graham JM Jr. (1997) Incidence of fetal alcohol syndrome and prevalence of alcohol-related neurodevelopmental disorder. *Teratology.* 56(5):317-26.
- Sereno AB. (1992) Programming saccades: the role of attention. In: Rayner K, ed. *Eye movements and visual cognition: Scene perception and reading*. New York: Springer-Verlag. 89-107.
- Spadoni AD, McGee CL, Fryer SL & Riley EP. (2007) Neuroimaging and fetal alcohol spectrum disorders. *Neurosci Biobehav Rev.* 31:239-45.
- Spedding M & Gressens P. (2008) Neurotrophins and cytokines in neuronal plasticity. *Novartis Found Symp.* 289:222-33; discussion 233-40.
- Steinman BA, Steinman SB & Lehmkuhle S. (1997) Transient visual attention is dominated by the magnocellular stream. *Vision Res.* 37:17-23.
- Steinman SB & Steinman BA. (1998) Vision and attention. I: Current models of visual attention. *Optom Vis Sci.* 75(2):146-55.
- Steinman SB, Steinman BA & Garzia RP. (1998) Vision and attention. II: Is visual attention a mechanism through which a deficient magnocellular pathway might cause reading disability? *Optom Vis Sci.* 75(9):674-81.
- Streissguth A, Sampson P, Olson H, Bookstein F, Barr H, Scott M, Feldman J & Mirsky AF. (1994) Maternal drink during pregnancy: attention and short-term memory in

- 14-year-old offspring-a longitudinal prospective study. *Alcohol Clin Exp Res.* 18:202-18.
- Strömland K. (1985) Ocular abnormalities in the fetal alcohol syndrome. *Acta Ophthalmol Suppl.* 171:1-50.
- Strömland K & Pinazo-Durán MD. (2002) Ophthalmic involvement in the fetal alcohol syndrome: clinical and animal model studies. *Alcohol Alcohol.* 37(1):2-8.
- Tenkova T, Young C, Dikranian K, Labruyere J, Olney JW. (2003) Ethanol-induced apoptosis in the developing visual system during synaptogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 44(7):2809-17.
- Tsai J, Floyd R. (2004) Alcohol consumption among women who are pregnant or who might become pregnant-United States, 2002 *MMWR Center Dis Control* 53:1178-81.
- West MJ & Gundersen HJ. (1990) Unbiased stereological estimation of the number of neurons in the human hippocampus. *J Comp Neurol.* 296(1):1-22.
- West M, Slomianka L, Gundersen H. (1991) Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionators. *Anat Rec.* 231:482-97.
- Williams RW, Rakic P. (1988) Elimination of neurons from the rhesus monkey's lateral geniculate nucleus during development. *J Comp Neurol.* 272(3):424-36.
- Wise SP & Jones EG. (1978) Developmental studies of thalamocortical and commissural connections in the rat somatic sensory cortex. *J Comp Neurol.* 178(2):187-208.

2.8 Table and figures

Table 1- Subject profile

Animal	Sex	Alcohol started ^a	Duration of exposure ^b	Alcohol/day g/kg	Total exposure ^c	Age at sacrifice (day)
02898-5	m	96	9.86	2.55	103.46	18
03245-3	m	72	13.30	2.82	149.50	4
05154-1	m	112	7.57	2.10	64.82	1
03307-3	m	94	10.14	3.16	138.34	35
05011-4	m	72	13.30	1.49	89.90	15
01808-3-1	f	87	11.14	1.46	68.90	30
06692-1	m	x	x	sucrose	x	1
06332-1	m	x	x	sucrose	x	12
06228-1	m	x	x	sucrose	x	27
05232-2	m	x	x	sucrose	x	9
06172-1	m	x	x	sucrose	x	4

^aGestational day alcohol started computed on the basis of 165 days full-term gestation.

^bDuration of exposure calculated as the number of weeks between the start of ethanol exposure and delivery.

^cTotal number of g/kg over the entire exposure period based on the amount the dam drank during pregnancy and her body weight before pregnancy.

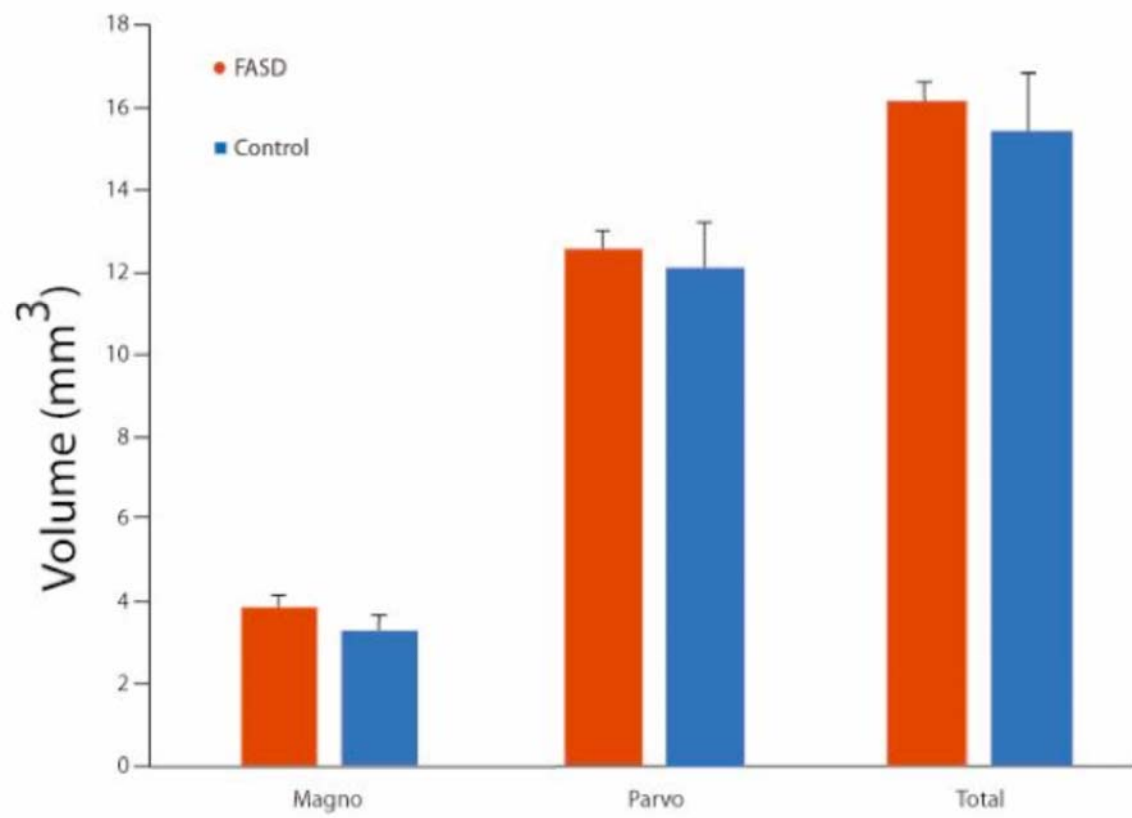


Figure 1- Regional volume of the M and P regions and the total of both regions. There is no significant difference between the regional volume of the control and the fetal alcohol spectrum disorders (FASD) groups for both regions.

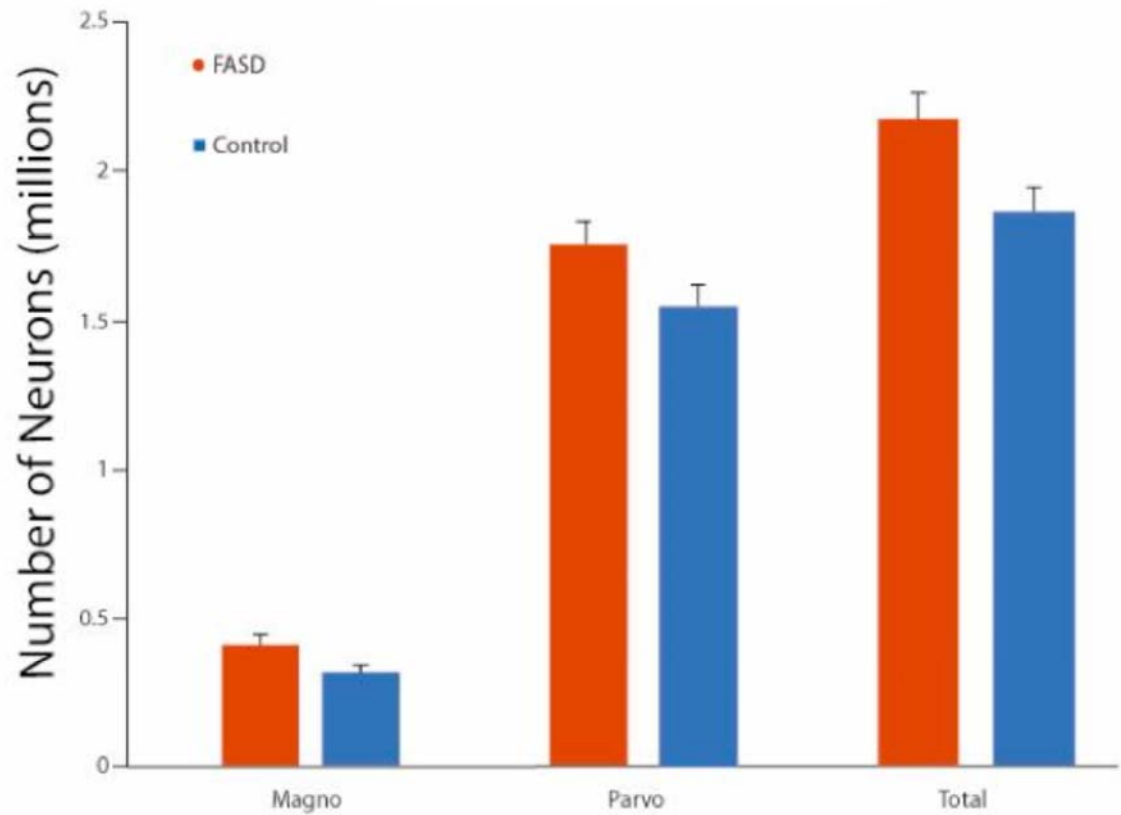


Figure 2- Number of neurons in the M and P regions and the total of both regions. There is no significant difference between the number of neurons of the control and the FASD groups for both regions.

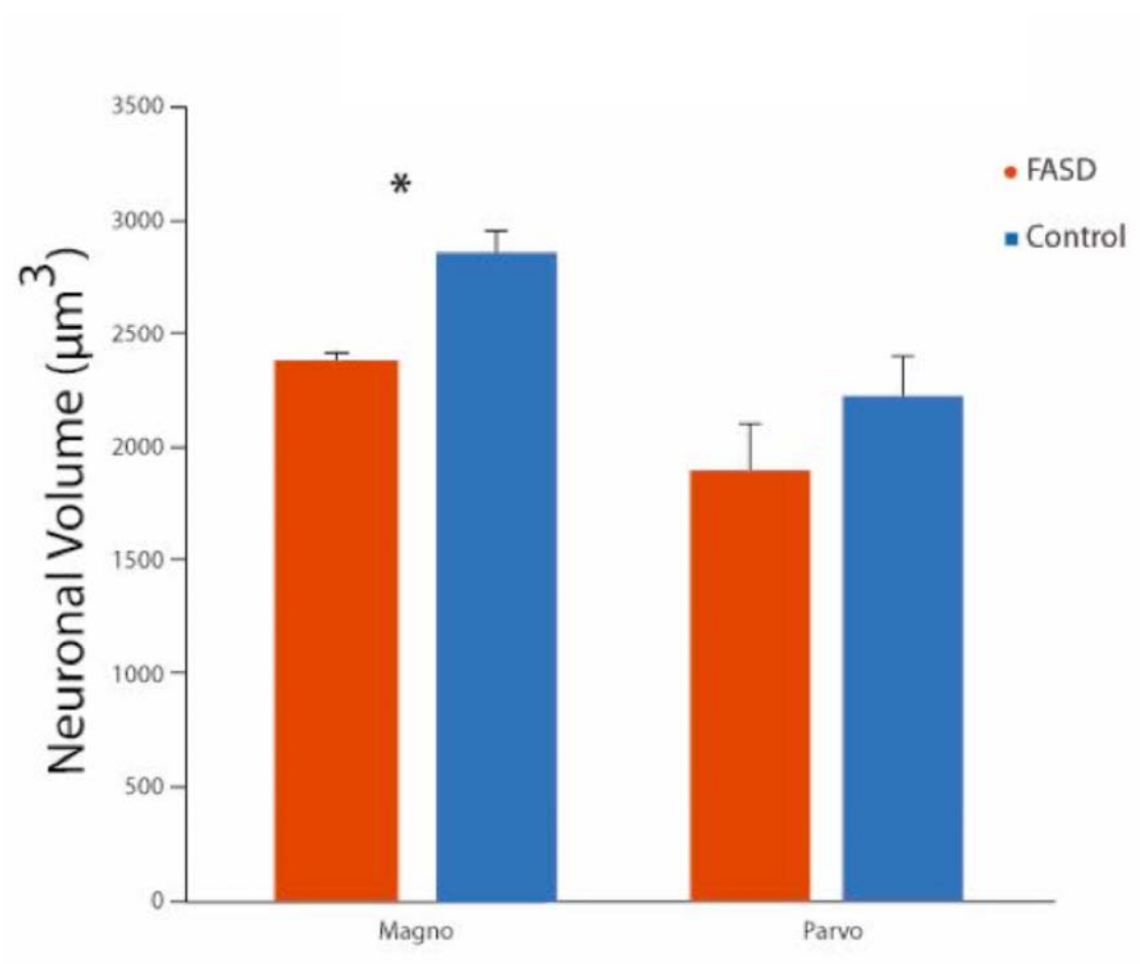


Figure 3- Neuronal volume for the M and P regions. FASD group shows a 20% reduction in the M neuronal volume. * < 0.05 FASD versus control.

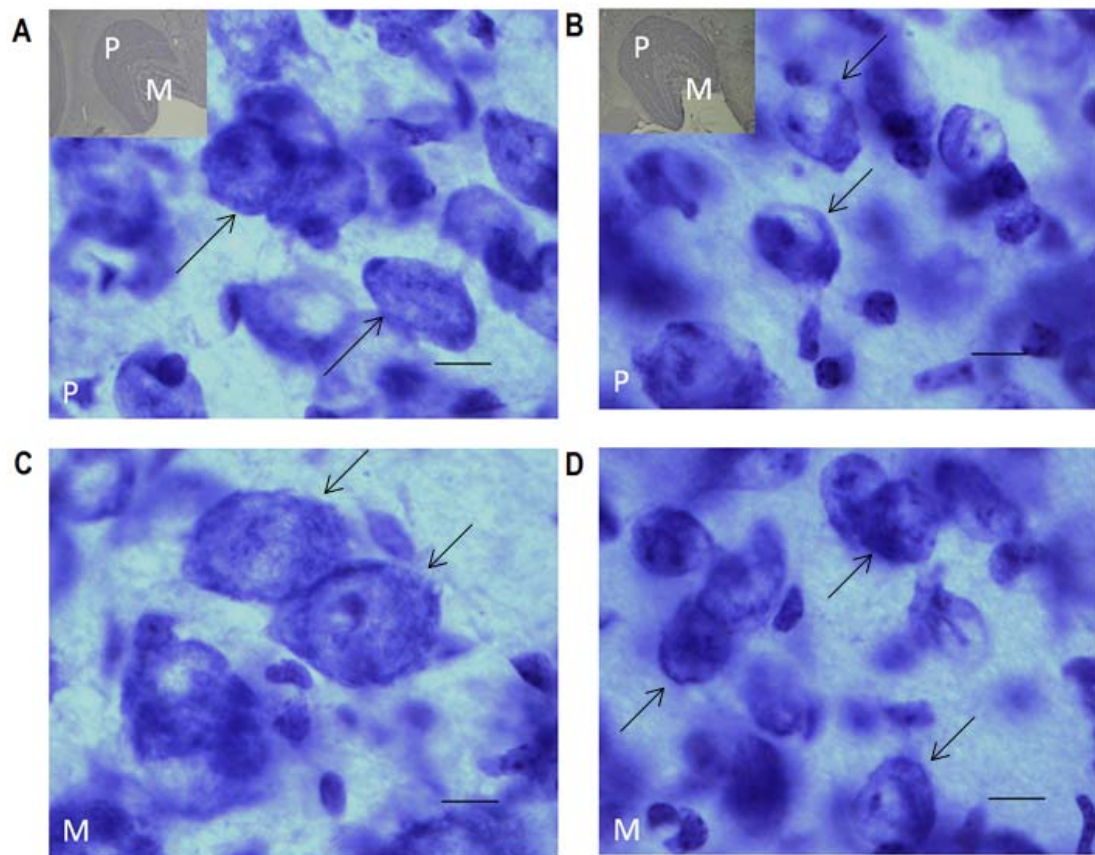


Figure 4- Cresyl-stained sections of lateral geniculate nuclei from a control (A-C) and an FASD (B-D) monkey brain. Parvocellular neurons are shown in A and B (Magnification 100X) with subset of the LGN section on the left upper corner (Magnification 2.5X). Magnocellular neurons are shown in C and D. Note that the magnocellular cells in the FASD (D) animal are smaller than the ones in the control (C) (Magnification 100X).

Chapitre 3

Discussion

3. Discussion

Nos résultats démontrent que contrairement aux résultats obtenus par Clarren *et al.* (1990) qui montraient une diminution du nombre de neurones dans la couche des CGRs et à notre hypothèse de départ qui stipulait que nous devrions observer une baisse de neurones dans le CGLd à la suite d'une exposition modérée à l'alcool durant la gestation, nous n'observons aucun changement significatif dans le nombre de neurones du CGLd. Les populations de neurones des deux régions M et P du CGLd ne subissent aucun changement entre les singes exposés et ceux qui ont servis de contrôles. Les volumes totaux des régions demeurent également identiques dans les deux groupes. Cependant, nous avons observé une diminution de 17% de la taille du soma dans la population M des singes exposés à l'alcool mais, le volume neuronal dans la population P est demeuré le même chez les singes exposés et les singes témoins.

3.1 Considérations méthodologiques

3.1.1 Stéréologie

Pour la première fois dans cette étude, une méthode stéréologique (le dissecteur optique) a été utilisée pour examiner les effets de faibles doses d'alcool sur le développement du CGLd. Ce procédé simple permet d'estimer un nombre de cellules dans une région précise. Cette méthode nous a donc permis d'obtenir des estimations non-biaisées du nombre de neurones dans le CGLd et ses sous-régions M et P. Le coefficient d'erreur (CE) représente l'incertitude méthodologique. Il peut nous indiquer le niveau d'exactitude de nos estimations. Plus le CE est petit, plus le nombre estimé se rapproche du nombre absolu de neurones dans les régions étudiées. Un CE inférieur à 10% pour l'estimation du nombre de neurones est jugé satisfaisant dans la mesure que sa contribution au coefficient de variation (CV) est inférieure à sa contribution au coefficient de variation biologique (BCV) (Burke *et al.*, 2009). La précision des estimations peut alors être déterminée par le ratio BCV^2/CV^2 . Si nous obtenons pour ce ratio une valeur supérieure à 0.5, ceci démontre une précision stéréologique acceptable

(Burke *et al.*, 2009). L'ensemble des estimations (CGLd, M et P) pour les sujets contrôles et pour ceux exposés a obtenu un ratio BCV^2/CV^2 supérieur à 0.5. Ceci indique que le principal facteur contribuant à la variation totale du nombre de cellules est la véritable différence entre les sujets et non l'erreur sur la précision de la méthode utilisée (West & Gundersen, 1990).

Ces résultats prouvent que la méthode d'échantillonnage utilisée lors de cette étude a permis d'obtenir des estimations de neurones très proches des valeurs réelles. Ainsi, un comptage moyen de 261 neurones a été suffisant pour obtenir des estimations précises du nombre de cellules présentes dans le CGLd et ses régions M et P. L'utilisation de la stéréologie a donc contribué à obtenir des résultats fiables. Les résultats obtenus se comparent favorablement à ceux obtenus pour le rhésus (Williams & Rakic, 1988), le vervet (Boire *et al.*, 2002) et d'autres espèces de primates (*Macaca mulatta*, Ahmad & Spear, 1993; *M. nemestrina*, Blasco *et al.*, 1999). Les études précédentes ont toutes utilisé une méthode stéréologique pour estimer le nombre de neurones dans le CGLd à l'exception de l'étude de Williams & Rakic (1988).

3.2 Effets sur le développement anatomique du système visuel

3.2.1 L'œil et la rétine

L'expérience de Clarren *et al.* (1990) a observé une baisse du nombre de cellules des CGRs à la suite d'une exposition à l'alcool chez le primate non humain. Étant donné que le nombre de neurones dans les CGRs dépendent du nombre de neurones dans le CGLd et que celui-ci ne subit pas de diminution, nos résultats suggèrent plutôt l'idée qu'il n'y ait pas de perte de cellules au niveau des CGRs. Nous pouvons également penser que les singes exposés à de faibles doses d'alcool ne souffrent pas d'hypoplasie du nerf optique. Puisque nous n'observons pas de différences dans les populations neuronales des couches M et P, nous pouvons également croire qu'il n'y ait pas de différences dans les populations parasols et midjets. Il est cependant possible que la perte observée par Clarren *et al.* (1990) se concentre sur le 10% de neurones qui ne se connectent pas avec le CGLd. Par conséquent, rien n'exclut la possibilité de retrouver

des différences dans les projections rétiniennes qui se dirigent vers le CS, le pretectum et le noyau supra-chiasmatique. Une telle différence dans cette population rétinienne pourrait en partie appuyer les résultats obtenus par Green *et al.* (2009) qui montrent une déficience dans la motricité oculaire.

3.2.2 *Le corps genouillé latéral dorsal*

3.2.2.1 *Le nombre de neurones*

Nous n'avons pas trouvé de différence ni dans le nombre de cellules et ni dans les volumes totaux des deux régions M et P du CGLd. La formation des couches ne donne pas l'impression d'être perturbée puisqu'il ne semble pas y avoir de différence au niveau de l'apparence des couches du CGLd. Les études en recherche clinique ont montré qu'il y avait une réduction globale de la taille du cerveau (Spadoni *et al.*, 2007). Néanmoins, aucune réduction bien précise au niveau du thalamus n'a été décelée (Clark *et al.*, 2000). Les résultats de notre étude sont en accord avec cette conclusion, car nous n'observons pas de diminution tant dans le volume total du CGLd que dans le nombre total de neurones de celui-ci. Comme dans les études chez les rongeurs, les régions du thalamus semblent donc être épargnées par le processus de mort cellulaire par apoptose induite par l'éthanol durant le développement (Mooney & Miller, 2001). Dans le cortex des rongeurs, l'exposition prénatal à l'alcool réduit le niveau d'expression de la protéine Bcl-2 alors que le niveau d'expression de la protéine caspase-3 est augmenté (Mooney & Miller, 2001) ce qui a pour effet de favoriser l'apoptose. La figure 14 nous montre les protéines impliquées dans le processus d'apoptose. Nos résultats comme ceux obtenus chez les rongeurs, proposent que le CGLd et le reste du thalamus possèdent des propriétés protectrices contre les effets apoptotiques de l'éthanol présent notamment dans le cortex. La mise en évidence de ces propriétés pourrait permettre de trouver un traitement dans le but d'augmenter la survie neuronale des régions du cerveau plus vulnérable comme le cortex.

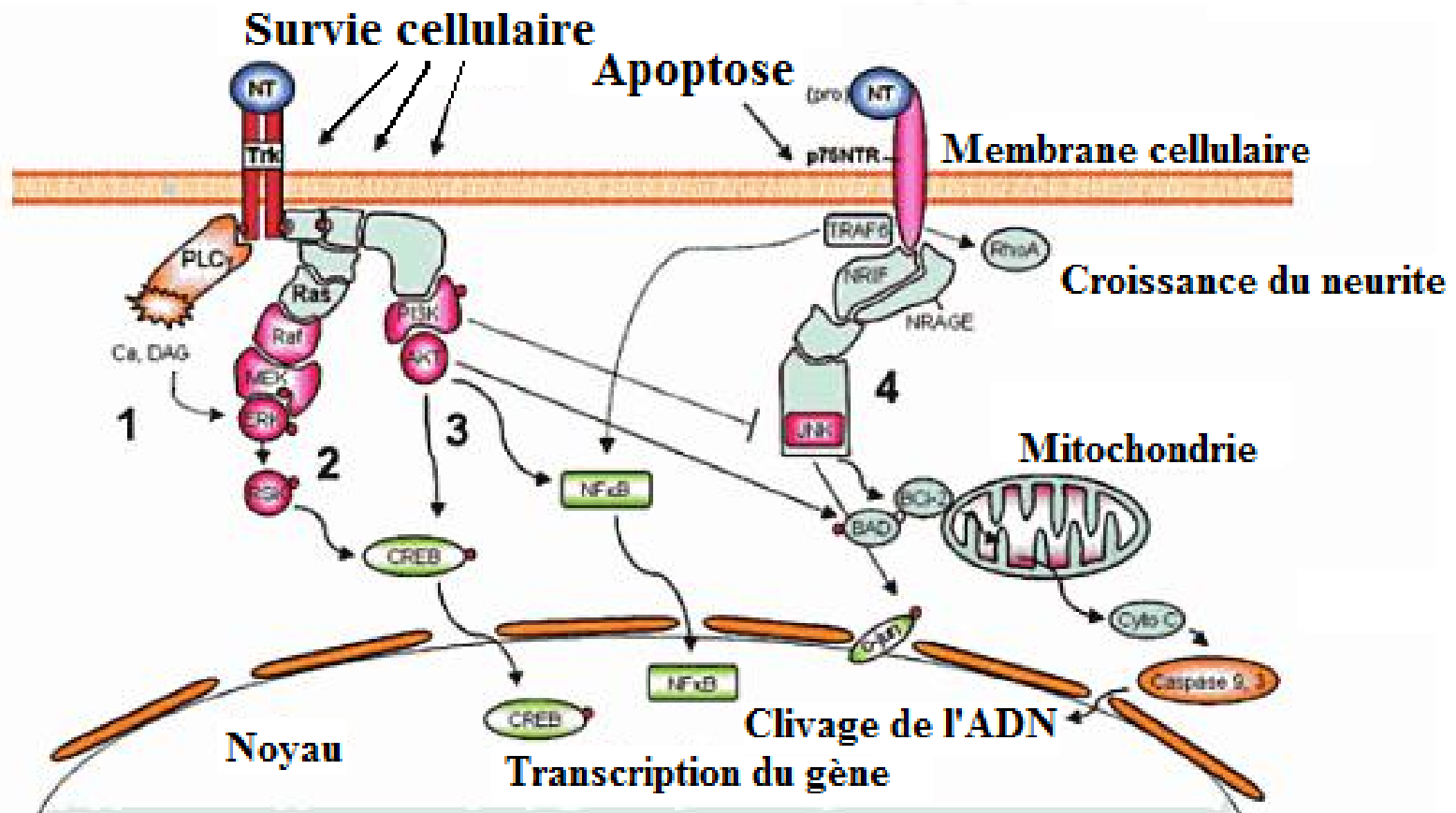


Figure 14- Voies de survie et de mort cellulaire. Figure adaptée de Squire, 2008.

3.2.2.2 *Le volume des neurones*

Le volume des neurones dans les couches M est de 20% inférieur chez les singes exposés à l'alcool. Avec les résultats actuels, il est impossible de définir si les neurones M de volumes inférieurs ont subi un ralentissement de croissance ou si nous sommes en présence d'un rétrécissement des cellules en processus d'apoptose. Un ralentissement de croissance des neurones M pourraient être expliqué par les effets de l'alcool sur un facteur de transcription impliqué dans le développement du système visuel, Pax6 (Pratt *et al.*, 2000). Pax6 est requis dans le thalamus dorsal pour la formation des connexions thalamo-corticales (Molnár *et al.*, 2003). Il a été démontré que l'exposition à l'alcool durant la gestation chez le rat réduit l'expression de Pax6 (Aronne *et al.*, 2008). Des anomalies dans l'expression de Pax6 peuvent occasionner une diminution de la différenciation cellulaire lors de la neurogénèse et de la gliogénèse (Aronne *et al.*, 2008). Puisque la neurogénèse est déjà complétée dans le CGLd au moment de l'exposition à l'alcool, la diminution de Pax6 n'a possiblement pas d'effet sur le nombre de neurones. Cependant, la population de cellules gliales pourrait être affectée puisque la gliogénèse a lieu dans le troisième trimestre de gestation. Indirectement, les neurones du CGLd peuvent être perturbés par une baisse de gliogénèse et plus précisément par une baisse du nombre d'astrocytes. Les astrocytes secrètent dans l'espace extracellulaire un facteur neurotrophique nommé S-100b qui est responsable de la maturation des neurones et de la formation des circuits neuronaux (Aronne *et al.*, 2008). Une diminution de S-100b pourrait ralentir la croissance et la maturation des cellules M. D'autres facteurs agissant sur la régulation génomique pourraient également exercer un rôle dans le volume cellulaire des cellules M (voir la figure 14).

3.2.2.3 *Le nombre de synapses et la morphologie dendritique des neurones*

L'organisation synaptique des neurones du CGLd chez le macaque est connue (Wilson, 1989). Les neurones P ont environ 500 synapses sur leurs arbres dendritiques, alors que les neurones M ont environ 3000 synapses sur leurs arbres dendritiques (Wilson, 1989). Aucune étude n'a montré les effets d'une exposition modérée à l'alcool

sur le nombre de synapses chez le primate. Une forte exposition à l'alcool après la naissance chez le rat provoque une diminution de la densité synaptique mais n'affecte pas la morphologie des neurones dans le cortex préfrontal (Whitcher & Klintsova, 2008). L'utilisation d'un marqueur des synapses comme la synaptophysine serait tout à fait indiqué pour observer des changements au niveau de la densité synaptique.

3.2.3 Les récepteurs endocannabinoïdes

Les récepteurs endocannabinoïdes (RECs) sont important pour le développement du système visuel chez les mammifères (Zabouri *et al.*, 2008). Ils sont présents dans la rétine chez le primate (Straiker *et al.*, 1999; Bouskila *et al.*, 2009) et ils sont importants dans les mécanismes de plasticité dans les différentes couches du cortex visuel chez la souris (Liu *et al.*, 2008). Nous ignorons si les RECs jouent un rôle direct sur le développement du CGLd. Les ligands endogènes du récepteur de cannabinoïdes CB1 tel que l'anandamide, le 2-arachidonylglycerol, et l'arachidonylethanolamide sont importants pour la régulation de la neurogénèse dans l'hippocampe lors du développement et à l'âge adulte chez le rat (Jiang *et al.*, 2005). L'alcool au contraire, perturbe la neurogénèse dans l'hippocampe lors de la même période chez le rat et le primate non-humain (Redila *et al.*, 2006; Papia *et al.*, 2008a). Il est donc possible que l'alcool perturbe la neurogénèse dans l'hippocampe en agissant sur les RECs soit en agissant directement sur les récepteurs ou soit en diminuant le nombre de récepteurs à la surface des membranes cellulaires. S'il est possible que l'alcool puisse agir sur les RECs de l'hippocampe, il est également possible qu'il agisse sur les RECs responsables du développement du système visuel. Il serait intéressant de vérifier si une exposition modérée à l'alcool influence le développement du système visuel en agissant sur les RECs.

3.2.4 Le cortex visuel primaire

Le CGLd a une influence sur le nombre de neurones total qui survivront dans V1 en libérant des supports neurotrophiques et/ou en formant des synapses avec ceux-ci

(Ghosh, 1996; Catalano & Shatz, 1998; Dehay *et al.*, 2001). La couche IV de V1 se termine autour du 85^e jour de gestation chez le singe et les axones du CGLd atteignent la couche IV autour du 91^e jour de gestation. Si le nombre de neurones demeure intact dans le CGLd, les neurones qui communiquent avec V1 devraient être tous présents. La seule problématique peut cependant provenir du fait que si les neurones ne sont pas matures ou sont sur le point de mourir, il existe la possibilité que ceux-ci ne peuvent peut-être pas continuer à jouer leurs rôles dans le développement de V1. Donc, il est possible qu'il y ait des répercussions sur la maturité des cellules corticales puisque la maturité des cellules du cortex dépend de la maturité des cellules des niveaux inférieurs du système visuel (Daw, 2006). Chez les singes, la formation des bandes de dominances oculaires débutent lors du troisième trimestre de gestation et un mois après la naissance, celle-ci est presque complétée. Il est donc possible que les singes exposés à l'alcool puissent subir des changements lors de la formation des bandes de dominances oculaires (Medina *et al.*, 2005) parce que les cellules corticales ne sont pas suffisamment matures. De plus, rien n'exclut que les cellules de V1 soient plus vulnérables que les cellules du CGLd puisque les cellules du cortex frontal subissent une diminution à la suite d'une exposition à l'alcool (Burke *et al.*, 2009).

3.2.5 Les aires supérieures

Suite aux résultats obtenus lors de cette étude, il est impossible d'émettre des hypothèses sur les effets de l'alcool sur les aires supérieures du système visuel. Cependant, l'utilisation de la tractographie cérébrale par imagerie tensorielle de diffusion, une technique non invasive permettant de déterminer la trajectoire des faisceaux de neurones entre les diverses régions du cerveau, pourrait permettre de déceler de potentielles anomalies des aires supérieures du système visuel (Lebel *et al.*, 2008).

3.3 Effets sur les fonctions du système visuel

3.3.1 La rétine

L'électrorétinographie (ERG) est un examen de l'œil destiné à enregistrer l'activité électrique des cellules dans les cinq couches de la rétine après une stimulation lumineuse (Gouras & Carr, 1966). Cet examen permet notamment, d'examiner au moyen de lumières d'intensités et de couleurs différentes l'activité des cônes, sensibles aux fortes intensités et à la couleur rouge (système photopique), et à celle des bâtonnets, sensibles aux faibles intensités et au bleu (système scotopique). Un tel examen chez les singes exposés à l'alcool permettrait de vérifier s'il y aurait des changements dans la performance des PRs. Des ERGs de sujets atteints du FAS ont montré des anomalies dans le fonctionnement de la rétine (Hug *et al.*, 2000). La figure 15 nous montre que l'ERG scotopique des bâtonnets est plus sévèrement affecté que l'ERG photopique des cônes chez les enfants atteints du FAS (Hug *et al.*, 2000). Les cônes ont leur sommet de neurogénèse autour du 55^e jour de gestation chez le singe et les bâtonnets ont leur sommet autour du 85^e jour. Selon ces données et en tenant compte de la période d'exposition des bébés singes, il est possible que la neurogénèse des bâtonnets soit plus perturbée que celles des cônes par l'alcool dû à la fenêtre d'exposition. Cependant, une apoptose des PR pourrait également être une possibilité. Puisque les cellules bipolaires atteignent leur sommet de prolifération autour du 85^e jour, il serait intéressant de regarder s'il y a un changement dans cette population suite à une exposition à l'alcool. Les cellules bipolaires permettent les connexions entre les PRs et les CGRs. Une diminution de leurs nombres pourrait occasionner une baisse du niveau d'informations visuelles transmises aux autres régions du système visuel. Cependant, le nombre de cellules bipolaires ne devrait avoir aucune influence sur la formation des vagues rétiniennes et les connexions entre les cellules ganglionnaires, les neurones du CGLd et ceux du cortex visuel (Luo & O'Leary, 2005).

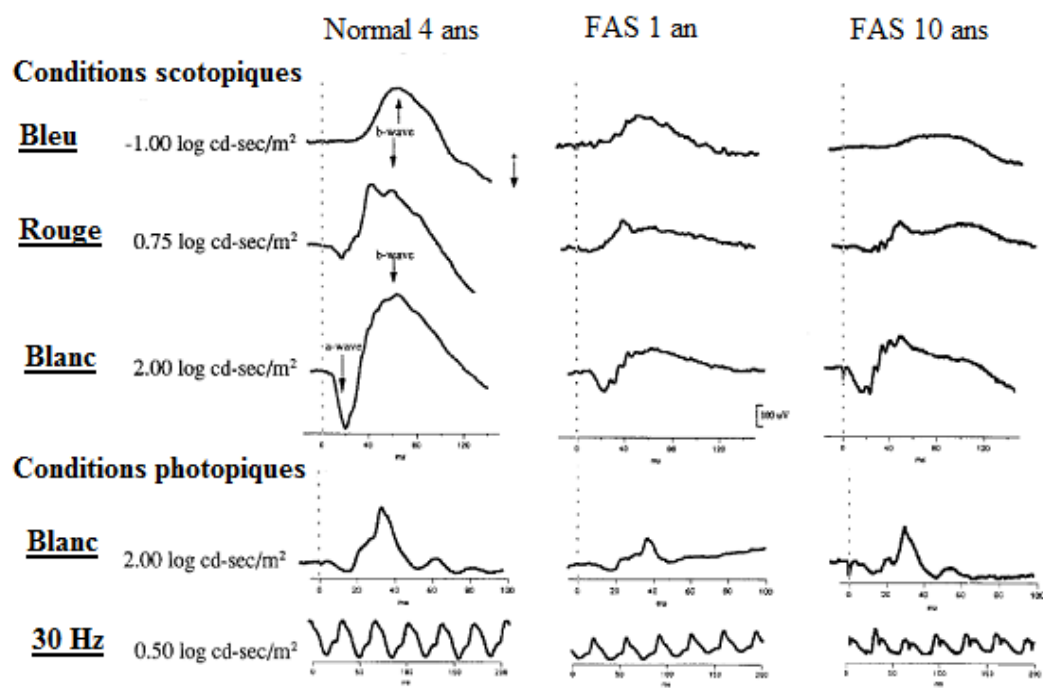


Figure 15- Comparaison des ERGs de patients sains et atteint du FAS.

Figure adaptée de Hug *et al.*, 2000.

3.3.2 *Le corps genouillé latéral*

Nous avons vu dans la section précédente qu'il existe un examen capable de vérifier le fonctionnement des PR de la rétine. Cependant, au-delà des PR, il n'existe pas de test visuel simple et direct pour vérifier le fonctionnement spécifique du CGLd. La tomographie par émission de positrons (TEP) est une technique médicale fondée sur la détection des rayonnements associés aux positrons émis par une substance radioactive introduite dans l'organisme et permettant d'obtenir des images en coupe de certains organes. La TEP consiste à mesurer la concentration d'un élément radioactif dans chaque volume élémentaire (dit voxel) de l'organisme. En intégrant cet émetteur de positron dans une molécule présentant des propriétés biochimiques spécifiques, il est possible de visualiser la répartition de cette molécule dans l'organisme, à l'aide d'une caméra à positrons couplée à un ordinateur, et d'effectuer des coupes tomographiques, à partir desquelles l'ordinateur reconstruit une représentation en trois dimensions. L'utilisation du fluor 18 pour marquer un analogue du glucose (le fluoro-déoxy-glucose), métabolisé entre autre par le cerveau, permet d'étudier son intégrité fonctionnelle. Une étude clinique chez des enfants atteints du FAS a montré en utilisant la technique de la TEP que le thalamus subissait des anomalies au niveau du métabolisme du glucose (Clark *et al.*, 2000). Une autre étude suggère que ces altérations métaboliques sont de grande durée ou permanentes dans plusieurs régions du cerveau dont le thalamus chez des adolescents et des jeunes adultes atteints du FASD (Fagerlund *et al.*, 2006). Cette étude suggère également que les altérations métaboliques représentent des changements dans la population des cellules gliales plutôt que dans les neurones. Par conséquent, puisque le volume du CGLd et le nombre de neurones dans les régions M et P ne sont pas altérés, il est possible que le fonctionnement métabolique soit demeuré intact dans les neurones mais, que les cellules gliales aient un métabolisme altéré. Cependant, il n'est pas exclu que la diminution du volume neuronal des cellules M puisse avoir des conséquences sur leur activité neuronale, leur métabolisme et ultimement sur les fonctions visuelles. Les neurones qui ont un gros corps cellulaire possèdent des axones plus épais qui leur confèrent une plus grande vitesse de conduction (Galaburda & Livingstone, 1993). Les neurones M ont un soma plus grand que les

neurones P car les informations provenant de la voie M doivent parvenir au cortex visuel avant celle de la voie P (Steinman *et al.*, 1997). Cette priorité de la voie M sur la voie P, permet d'abord au système visuel de localiser un objet rapidement et par la suite de l'identifier (Steinman & Steinman, 1998). Breitmeyer & Ganz (1976) ont soumis l'hypothèse que la voie M pouvait jouer un rôle direct en dirigeant l'attention sélective durant une tâche de lecture. Selon ce modèle, l'attention visuelle a pour rôle de déplacer le regard à partir d'un point de fixation dans la région parafovéale vers la droite du point de fixation de manière à ce que le mouvement de l'œil en saccade puisse être programmé (Steinman *et al.*, 1998). Un déplacement de l'attention visuelle est nécessaire avant de pouvoir changer de point de fixation (Serenio, 1992) et la voie M joue un rôle important dans les mécanismes d'attention visuelle par le biais de la redirection des saccades oculaires (Steinman *et al.*, 1997). Ces mécanismes dépendent aussi grandement de l'apport des neurones du cortex pariétal postérieur, une des deux régions de projections de l'aire MT qui fait partie de la voie M (Hussain, 1991). Le cortex pariétal postérieur forme de fortes connexions importantes pour les saccades oculaires avec les champs visuels frontaux et les couches intermédiaires du CS (Mowafy *et al.*, 1990). Ces études proposent que la voie M puisse influencer la planification des mouvements de l'œil en saccades lors des tâches de lecture (Steinman *et al.*, 1998). Une étude récente a démontré que les enfants qui sont exposés à l'alcool, obtiennent des résultats inférieurs lors d'une tâche qui mesure le mouvement de l'œil (Green *et al.*, 2009). Cette déficience lors des mouvements en saccade de l'œil pourrait être une conséquence de la taille inférieure des neurones M du CGLd. On pourrait donc s'attendre à ce que les singes FASD présentent des troubles dans les mouvements saccadiques des yeux qui pourraient influencer les mécanismes de fixation et d'attention.

À partir du 80^e jour de gestation jusqu'à l'ouverture des yeux (123^e jour), les vagues rétiniennes organisent les connexions entre les diverses régions du système visuel. L'activité neuronale permet le relâchement de facteurs neurotrophiques permettant l'établissement des connexions synaptiques (Ghosh, 1996). À partir du 123^e jour et surtout à partir de la naissance, l'activité visuelle prend le relai et permet de compléter le branchement des connexions synaptiques.

3.3.3 *Le cortex visuel primaire*

Les expériences effectuées sur les rats ont montrés des diminutions du nombre de neurones dans le cortex visuel (Tenkova *et al.*, 2003). Également chez les rats, il a été démontré que la couche IV du cortex moteur subissait une baisse de son activité métabolique suite à une exposition à l'alcool (Miller & Dow-Edwards, 1988). Chez les primates il a été démontré que le cortex préfrontal subissait une baisse du nombre de neurones à la suite d'une exposition modérée à l'alcool (Burke *et al.*, 2009). Ceci nous indique que le cortex est beaucoup plus sensible à l'alcool que le thalamus chez le primate. Le cortex visuel des primates est très différent de celui des rongeurs (Lukaszewicz *et al.*, 2005). Une de ces différences est qu'il possède une densité deux fois plus grande que n'importe quelle autre région du cortex (Dehay *et al.*, 1993). Il serait intéressant d'étudier les effets de l'alcool de la couche IV du cortex visuel, celle qui reçoit les informations provenant du CGLd, tant au niveau cyto-architectural qu'au niveau métabolique.

3.3.4 *Les aires supérieures*

L'étude de Flanigan *et al.* (2008) conclut que seulement les enfants exposés à de fortes concentrations d'alcool et qui présentent les symptômes sévères du FAS sont à risque de développer des déficiences ophtalmologiques. Cependant, un enfant peut très bien avoir une bonne acuité visuelle, aucun retard mental, ne pas avoir besoin de lunettes mais avoir de la difficulté à analyser correctement les informations visuelles provenant de ses yeux vers les aires supérieures. Habituellement, les champs récepteurs des neurones grandissent et sont par exemple cent fois plus grands dans CIT que dans V1, de telle sorte que la rétinotopie s'estompe. Les neurones deviennent de plus en plus sélectifs à des objets précis de façon de moins en moins localisée, jusqu'à certains neurones corticaux recouvrent le champ visuel en entier. L'image est transformée au profit d'une représentation progressivement plus fonctionnelle et décomposée en attributs de plus en plus complexes et abstraits (Zeki & Shipp, 1998). Donc, même si le CGLd semble être épargné quand aux nombres de neurones, de subtils changements dans les aires

inférieures peuvent avoir de grandes répercussions dans les aires supérieures, autant dans V1 que dans les voies pariétale et temporale. La mémoire visuelle pourrait également être affectée puisque l'hippocampe subit une diminution du nombre de neurones (Burke *et al.*, 2007) et la neurogénèse y est également diminuée (Papia *et al.*, 2008a). Des tests simples avec des feuilles de papier et un crayon seraient suffisant pour vérifier les possibles troubles neurovisuels chez les jeunes enfants.

3.3.5 Comparaison avec la dyslexie de développement

La dyslexie de développement est caractérisée par un déficit sévère d'acquisition de la lecture, en dépit d'une intelligence normale, d'un accès adéquat aux possibilités éducatives et en l'absence de diagnostic neurologique ou psychiatrique supplémentaire (Vickensbosch & Eliez, 2004). Une hypothèse de la dyslexie de développement propose qu'une défectuosité magnocellulaire se manifeste également comme dans notre étude par une diminution du volume des neurones magnocellulaires du CGLd (Galaburda & Livingstone, 1993). Une étude d'imagerie de résonance magnétique fonctionnelle (fMRI) chez des sujets adultes atteint de dyslexie de développement a également démontré que les régions V1 et V2 présentaient des activations similaires, mais que l'activation fonctionnelle dans l'aire V5 était perturbée (Eden *et al.*, 1996). Il est donc possible qu'une telle défectuosité dans V5 puisse également se retrouver chez les singes FASD.

Chapitre 4

Conclusion

4. Conclusion

À la lueur des résultats obtenus, il est évident que les effets de l'alcool à différents dosages n'occasionnent pas les mêmes effets sur le développement et le fonctionnement du système visuel. Si certains enfants atteints du FASD présentent des symptômes comme une hypoplasie du nerf optique, des vaisseaux rétiens ayant une plus grande tortuosité et une vision perturbée (Strömland & Pinazo-Durán, 2002), les résultats obtenus tendent plutôt à renforcer les conclusions obtenus par Flanigan (2008) qui soutient que les enfants exposés à de plus faibles concentrations ont des risques beaucoup plus faibles de présenter des problèmes ophtalmologiques. Cependant, les anomalies observées dans le thalamus lors des expériences d'imagerie et lors de cette expérience n'excluent pas la possibilité que les enfants soient atteints de troubles neurovisuels au-delà du CGLd. Des expériences supplémentaires aux niveaux des aires supérieures du système visuel (voies pariétales et dorsales) doivent faire l'objet de recherches plus approfondies. Ces connaissances pourraient permettre le développement de traitement de rééducation du cortex par l'entremise de la plasticité cérébrale. La vision est un des critères de réussite scolaire. Il ne faudrait pas négliger l'impact des effets observés lors de cette étude pour le bien-être des enfants exposés à de faibles doses d'alcool car ceux-ci vivront avec ses effets lorsqu'ils deviendront des adultes (Danel & Karila, 2004).

5. Bibliographie (Introduction et Discussion)

- Ahmad A & Spear PD. (1993) Effects of aging on the size, density, and number of rhesus monkey lateral geniculate neurons. *J Comp Neurol.* 334(4):631-43.
- Aronne MP, Evrard SG, Mirochnic S & Brusco A. (2008) Prenatal ethanol exposure reduces the expression of the transcriptional factor *Pax6* in the developing rat brain. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1139:478-98.
- Banks MS & Bennett PJ. (1988) Optical and photoreceptor immaturities limit the spatial and chromatic vision of human neonates. *J Opt Soc Am A.* 5(12):2059-79.
- Blasco B, Avendaño C & Cavada C. (1999) A stereological analysis of the lateral geniculate nucleus in adult *Macaca nemestrina* monkeys. *Vis Neurosci.* 16(5):933-41.
- Boire D, Théoret H & Ptito M. (2002) Stereological evaluation of neurons and glia in the monkey dorsal lateral geniculate nucleus following an early cerebral hemispherectomy. *Exp Brain Res.* 142(2):208-20.
- Boothe RG, Greenough WT, Lund JS & Wrege K. (1979) A quantitative investigation of spine and dendrite development of neurons in visual cortex (area 17) of *Macaca nemestrina* monkeys. *J Comp Neurol.* 186(3):473-89.
- Bouskila J, Burke M, Zangenehpour S, Bouchard JF & Ptito M. (2009) Localization of the endocannabinoid in the retina of the St.Kitts green monkey (*chlorocebus sabaeus*): peripheral vs central vision. Society of Neuroscience Meeting, Chicago.
- Boycott BB & Wässle H. (1991) Morphological classification of bipolar cells of the primate retina. *Eur J Neurosci.* 3(11):1069-88.
- Breitmeyer BG & Ganz L. (1976) Implications of sustained and transient channels for theories of visual pattern masking, saccadic suppression, and information processing. *Psychol Rev.* 83(1):1-36.
- Bremmer F, Duhamel JR, Ben Hamed S & Graf W. (1999) Eye position encoding in the macaque ventral intraparietal area (VIP). *Neuroreport.* 10(4):873-8.
- Bremmer F, Duhamel JR, Ben Hamed S & Graf W. (2002) Heading encoding in the macaque ventral intraparietal area (VIP). *Eur J Neurosci.* 16(8):1554-68.

- Brodal P. (1992) *The central nervous system: Structure and function*. Oxford University Press, New York, 464p.
- Burke MW, Palmour RM, Boire D, Vezina-Audette R, Bourget-Coulombe S, Ptito M & Ervin FR. (2007) Neuroanatomical deficits following moderate prenatal ethanol exposure in the non-human primate. *Canadian Journal of Neurological Sciences*. Suppl. 3: S37.
- Burke MW, Palmour RM, Ervin FR & Ptito M. (2009) Neuronal reduction in frontal cortex of primates after prenatal alcohol exposure. *Neuroreport*. 20(1):13-7.
- Calkins DJ & Sterling P. (1999) Evidence that circuits for spatial and color vision segregate at the first retinal synapse, *Neuron*, 24(2):313-21.
- Catalano SM & Shatz CJ. (1998) Activity-dependent cortical target selection by thalamic axons. *Science*. 281:559-62.
- Clancy B, Darlington RB & Finlay BL. (2001) Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience*. 105:7-17.
- Clark CM, Li D, Conry J, Conry R & Loock C. (2000) Structural and functional brain integrity of fetal alcohol syndrome in nonretarded cases. *Pediatrics*. 105(5):1096-9.
- Clarren SK, Astley SJ, Bowden DM, Lai H, Milam AH, Rudeen PK & Shoemaker WJ. (1990) Neuroanatomic and neurochemical abnormalities in nonhuman primate infants exposed to weekly doses of ethanol during gestation. *Alcohol Clin Exp Res*. 14(5):674-83.
- Coe CL, Savage A & Bromley LJ. (1992) Phylogenetic influences on hormone levels across the primate order. *Am J Primatol*. 28:81-100.
- Dacey DM & Lee BB. (1994) The blue-ON opponent pathway in primate retina originates from a distinct bistratified ganglion cell type, *Nature*, 367:731-35.
- Dacey DM. (2000) Parallel pathways for spectral coding in primate retina, *Annu Rev Neurosci.*, 23:743-75.
- Danel T & Karila L. (2004) Exposition prénatale à l'alcool : expression clinique à l'âge adulte. *Actualité et dossier en santé publique*. 48 :14-17.
- Daw NW. (2006) *Visual Development*. 2e édition. Springer Science+Business Media, Inc., New York, 268p.

- de Courten C & Garey LJ. (1982) Morphology of the neurons in the human lateral geniculate nucleus and their normal development. A Golgi study. *Exp Brain Res.* 47(2):159-71.
- Dehay C, Giroud P, Berland M, Smart I, Kennedy H. (1993) Modulation of the cell cycle contributes to the parcellation of the primate visual cortex. *Nature.* 366(6454):464-6.
- Dehay C, Savatier P, Cortay V & Kennedy H. (2001) Cell-cycle kinetics of neocortical precursors are influenced by embryonic thalamic axons. *J Neurosci.* 21(1):201-14.
- Dekaban A. (1954) Human thalamus: An anatomical, developmental, and pathological study. II. Development of the human thalamic nuclei. *J Comp Neurol.* 100(1):63-97.
- DeYoe EA & Van Essen DC. (1985) Segregation of efferent connections and receptive field properties in visual area V2 of the macaque. *Nature.* 317(6032):58-61.
- Diamond IT, Conley M, Itoh K & Fitzpatrick D. (1985) Laminar organization of geniculocortical projections in *Galago senegalensis* and *Aotus trivirgatus*, *J Comp Neurol.* 242(4):584-610.
- Disotell TR. (2000) Molecular systematic of the Cercopithecidae. Dans: PF Whitehead & CJ Jolly (Eds.), *Old World Monkeys*, Cambridge University Press., Cambridge, pp.29-56.
- Duffy CJ & Wurtz RH. (1991) Sensitivity of MST neurons to optic flow stimuli. I. A continuum of response selectivity to large-field stimuli. *J Neurophysiol.* 65(6):1329-45.
- Duffy CJ & Wurtz RH. (1991a) Sensitivity of MST neurons to optic flow stimuli. II. Mechanisms of response selectivity revealed by small-field stimuli. *J Neurophysiol.* 65(6):1346-59.
- Duhamel JR, Colby CL & Goldberg ME. (1992) The updating of the representation of visual space in parietal cortex by intended eye movements. *Science.* 255(5040):90-2.
- Eden GF, VanMeter JW, Rumsey JM, Maisog JM, Woods RP & Zeffiro TA. (1996) Abnormal processing of visual motion in dyslexia revealed by functional brain imaging. *Nature.* 382:66-9.

- Fagerlund A, Keikkinen S, Autti-Rämö I, Korkman M, Timonen M, Kuusi T, Riley EP & Lundborn N. (2006) Brain metabolic alterations in adolescents and young adults with fetal alcohol spectrum disorders. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*. 30(12):2097-104.
- Felleman DJ & Van Essen DC. (1991) Distributed hierarchical processing in primate cerebral cortex, *Cereb Cortex*. 1(1):1-47.
- Finlay BL & Clancy B. (2008) Chronology of development of the mouse visual system: Comparisons with human development. Dans: *Eye, Retina and Visual System of the Mouse*. L. Chalupa and R.W. Williams, eds. MIT Press, Cambridge. p.257-265.
- Flanigan EY, Aros S, Bueno MF, Conley M, Troendle JF, Cassorla F & Mills JL. (2008) Eye malformations in children with heavy alcohol exposure in utero. *J Pediatr*. 153:391-5.
- Freimer N, Dewar K, Kaplan J & Fairbanks L. (2007) The importance of the Vervet (African Green Monkey) as a biomedical model. <http://www.genome.gov/Pages/Research/Sequencing/SeqProposals/TheVervetMonkeyBiomedicalModel.pdf>.
- Galaburda A & Livingstone M. (1993) Evidence for a magnocellular defect in developmental dyslexia. *Ann NY Acad Sci*. 14:70-82.
- Garey LJ & de Courten C. (1983) Structural development of the lateral geniculate nucleus and visual cortex in monkey and man. *Behav Brain Res*. 10(1):3-13.
- Garey LJ & Saini KD. (1981) Golgi studies of the normal development of neurons in the lateral geniculate nucleus of the monkey. *Exp Brain Res*. 44(2):117-28.
- Gegenfurtner KR, Kiper DC & Levitt JB. (1997) Functional properties of neurons in macaque area V3. *J Neurophysiol*. 77(4):1906-23.
- Ghosh A. (1996) Cortical development: with an eye on neurotrophins. *Curr Biol*. 6(2):130-3.
- Gilbert CD & Kelly JP. (1975) The projections of cells in different layers of the cat's visual cortex. *J Comp Neurol*. 163(1):81-105.

- Gil-da-costa R & Hauser MD. (2006) Vervet monkeys and humans show brain asymmetries for processing conspecific vocalizations, but with opposite patterns of laterality. *Proc.R.Soc.B*, 273:2313-18.
- Gottlieb MD, Pasik P & Pasik T. (1985) Early postnatal development of the monkey visual system. I. Growth of the lateral geniculate nucleus and striate cortex. *Brain Res.* 349(1-2):53-62.
- Gouras P & Carr RE. (1966) Sources of electric activity in monkey retina. Dans: Clinical electroretinography. Éditeurs: Burian HM & Jacobson JH., Pergamon Press, Oxford, p.139-142.
- Green CR, Mihic AM, Brien DC, Armstrong IT, Nikkel SM, Stade BC, Rasmussen C, Munoz DP & Reynolds JN. (2009) Oculomotor control in children with fetal alcohol spectrum disorders assessed using a mobile eye-tracking laboratory. *Eur J Neurosci.* 29(6):1302-9.
- Greenough WT, Hwang HM & Gorman C. (1985) Evidence for active synapse formation or altered postsynaptic metabolism in visual cortex of rats reared in complex environments. *PNAS.* 82(13):4549-52.
- Hendrickson A & Rakic P. (1977) Histogenesis and synaptogenesis in the dorsal lateral geniculate nucleus (LGd) of the fetal monkey brain. *Anat Rec.* 187:602.
- Hendry SHC & Reid CR. (2000) The koniocellular pathway in primate vision. *Annu Rev Neurosci.* 23:127-153.
- Hendry SHC & Yoshioka T. (1994) A neurochemically distinct third channel in the macaque dorsal lateral geniculate nucleus, *Science*, 264:575-77.
- Herbin M, Boire D et Ptito M. (1997) Size and distribution of retinal ganglion cells in the St. Kitts Green Monkey (*Cercopithecus aethiops sabeus*) *J Comp Neurol.* 383(4):459-72.
- Hickey TL. (1977) Postnatal development of the human lateral geniculate nucleus: Relationship to a critical period for the visual system. *Science.* 198(4319):836-8.
- Higley JD, King Jr ST, Hasert MF, Champoux M, Suomi SJ & Linnoila M. (1996) Stability of interindividual differences in serotonin function and its relationship to severe aggression and competent social behavior in Rhesus Macaque females. *Neuropsychopharmacology.* 14(1):67-76.

- Hitchcock PF & Hickey TL. (1980) Prenatal development of the human lateral geniculate nucleus. *J Comp Neurol.* 194(2):395-411.
- Hubel DH & Livingstone MS. (1987) Segregation of form, color, and stereopsis in primate area 18. *J Neurosci.* 7(11):3378-415.
- Huberman AD, Dehay C, Berland M, Chalupa LM & Kennedy H. (2005) Early and rapid targeting of eye-specific axonal projections to the dorsal lateral geniculate nucleus in the fetal macaque. *J Neurosci.* 25(16): 4014-23.
- Hug TE, Fitzgerald KM & Cibis GW. (2000) Clinical and electroretinographic findings in fetal alcohol syndrome. *J AAPOS.* 4(4):200-4.
- Hussain M. (1991) Visuospatial and visuomotor functions of the posterior parietal lobe. In: Stein JF, ed. *Vision and Visual Dyslexia*. Boca Raton, FL: CRC Press, 12-43.
- Huttenlocher PR, de Courten C, Garey LJ & Van der Loos H. (1982) Synaptogenesis in human visual cortex--evidence for synapse elimination during normal development. *Neurosci Lett.* 33(3):247-52.
- Jiang W, Zhang Y, Xiao L, Van Cleemput J, Ji SP, Bai G & Zhang X. (2005) Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects. *J Clin Invest.* 115(11):3104-16.
- Jones KL, Smith DW, Ulleland CN & Streissguth P. (1973) Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. *Lancet.* 1(7815):1267-71.
- Kandel ER, Schwartz JH & Jessell TM. (2000) *Principles of neural science*. McGraw-Hill, New York, 1414p.
- Kaplan E. (2004) The M, P, and K pathways of the primate visual system. Dans : *The visual neuroscience Volume 1*. Éd. Leo M. Chalupa & John S. Werner. Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, p.481-93.
- Kremers J, Kaas JH, Martin PR & Solomon SG. (2005) The lateral geniculate nucleus. Dans: *The primate visual system: A comparative approach.*, Éd. Kremers J., John Wiley & Sons Ltd, Chichester, p.161-189.
- LaVail MM, Rapaport DH & Rakic P. (1991) Cytogenesis in the monkey retina. *J Comp Neurol.* 309(1):86-114.

- Lebel C, Rasmussen C, Wyper K, Walker L, Andrew G, Yager J & Beaulieu C. (2008) Brain diffusion abnormalities in children with fetal alcohol spectrum disorder. *Alcohol Clin Exp Res.* 32(10):1732-40.
- Leventhal AG, Rodieck RW & Dreher B. (1981) Retinal ganglion cell classes in the Old World monkey: morphology and central projections, *Science*, 213:1139-42.
- LeVay S, Wiesel TN & Hubel DH. (1980) The development of ocular dominance columns in normal and visually deprived monkeys. *J Comp Neurol.* 191(1):1-51.
- Lemoine P, Harrousseau H, Borteyru J & Menuet JC (1968) Les enfants de parents alcooliques. Anomalies observées. *Ouest Médical.* 25, 477.
- Liu CH, Heynen AJ, Shuler MG & Bear MF. (2008) Cannabinoid receptor blockade reveals parallel plasticity mechanisms in different layers of mouse visual cortex. *Neuron.* 58(3):340-5.
- Livingstone MS & Hubel DH. (1984) Specificity of intrinsic connections in primate primary visual cortex. *J Neurosci.* 4(11):2830-35.
- Livingstone MS & Hubel DH. (1988) Segregation of form, color, movement and depth: anatomy, physiology, and perception, *Science.* 240:740-49.
- Lukaszewicz A, Savatier P, Cortay V, Giroud P, Huissoud C, Berland M, Kennedy H, Dehay C. (2005) G1 phase regulation, area-specific cell cycle control, and cytoarchitectonics in the primate cortex. *Neuron.* 47(3):353-64.
- Lund JS & Holbach SM. (1991) Postnatal development of thalamic recipient neurons in the monkey striate cortex: I. Comparison of spine acquisition and dendritic growth of layer 4C alpha and beta spiny stellate neurons. *J Comp Neurol.* 309(1):115-28.
- Luo L & O'Leary DD. (2005) Axon retraction and degeneration in development and disease. *Annu Rev Neurosci.* 28:127-56.
- Magoon EH & Robb RM. (1981) Development of myelin in human optic nerve and tract. *Archives of Ophthalmology.* 99(4):655-9.
- Martin RD. (1993) Primate origins: plugging the gaps. *Nature.* 363(6426):223-34.
- Martin PR & Grünert U. (2004) Ganglion cells in mammalian retinae. Dans: *The visual neurosciences Volume 1.* Édité par Leo M. Chalupa & John S. Werner. Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, p.410-21.

- Medina AE, Krahe TE & Ramoa AS. (2005) Early alcohol exposure induces persistent alteration of cortical columnar organization and reduced orientation selectivity in the visual cortex. *J Neurophysiol.* 93(3):1317-25.
- Meissirel C, Wikler KC, Chalupa LM & Rakic P. (1997) Early divergence of magnocellular and parvocellular functional subsystems in the embryonic primate visual system. *PNAS.* 94(11):5900-5.
- Michel AE & Garey LJ. (1984) The development of dendritic spines in the human visual cortex. *Hum Neurobiol.* 3(4):223-7.
- Miller MW & Dow-Edwards DL. (1988) Structural and metabolic alterations in rat cerebral cortex induced by prenatal exposure to ethanol. *Brain Res.* 474(2):316-26.
- Molnár Z, Higashi S & López-Bendito G. (2003) Choreography of early thalamocortical development. *Cereb Cortex.* 13(6):661-9.
- Mooney SM & Miller MW. (2001) Effects of prenatal exposure to ethanol on the expression of bcl-2, bax and caspase 3 in the developing rat cerebral cortex and thalamus. *Brain Res.* 911(1):71-81.
- Mowafy L, Lappin JS, Anderson BL & Mauk DL. (1990) Temporal factors in coherent motion perception. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 31(suppl):520.
- Murray KD, Rubin CM, Jones EG & Chalupa LM. (2008) Molecular correlates of laminar differences in the macaque dorsal lateral geniculate nucleus. *J Neurosci.* 28(46):12010-22.
- O'Kusky J & Colonnier M. (1982) Postnatal changes in the number of astrocytes, oligodendrocytes, and microglia in the visual cortex (area 17) of the macaque monkey: a stereological analysis in normal and monocularly deprived animals. *J Comp Neurol.* 210(3):307-15.
- Osterberg G. (1935) Topography of the layer of rods and cones in the human retina. *Acta Ophthal.* suppl. 6:1-103.
- Page SL & Goodman M. (2001) Catarrhine phylogeny: Noncoding DNA evidence for a diphyletic origin of the mangebeys and for a human-chimpanzee clade. *Mol Phylogenet Evol.* 18:14-25.

- Papia MF, Burke MW, Taras O, Palmour RM, Ervin FR & Ptito M. (2008) No neuronal loss in the retina and lateral geniculate nucleus of non-human primates with prenatal alcohol exposure. Society of Neuroscience Meeting, Washington DC.
- Papia M, Burke M, Palmour R, Ervin F & Ptito M. (2008a) The effects of naturalistic prenatal ethanol exposure on the hippocampal stem cell population in the non-human primate. 2nd Annual Canadian Neuroscience Meeting. Montréal, Canada.
- Pasupathy A & Connor CE. (2002) Population coding of shape in area V4. *Nat Neurosci.* 5(12):1332-8.
- Perry VH, Oehler R & Cowey A. (1984) Retinal ganglion cells that project to the dorsal lateral geniculate nucleus in the macaque monkey, *Neuroscience.* 12(4):1101-23.
- Polyak SL. (1941) *The Retina: The anatomy and the histology of the Retina in Man, Ape, and Monkey*, The University of Chicago Press, Chicago, 607p.
- Pratt T, Vitalis T, Warren N, Edgar JM, Mason JO & Price DJ. (2000) A role for Pax6 in the normal development of dorsal thalamus and its cortical connections. *Development.* 127(23):5167-78.
- Provis JM, van Driel D, Billson FA & Russell P. (1985) Development of the human retina: patterns of cell distribution and redistribution in the ganglion cell layer. *J Comp Neurol.* 233(4):429-51.
- Purves D & LaMantia A. (1993) Development of blobs in the visual cortex of macaques. *J Comp Neurol.* 334(2):169-75.
- Raaum RL, Sterner KN, Noviello CM, Stewart CB & Disotell TR. (2005) Catarrhine primate divergence dates estimated from complete mitochondrial genomes: concordance with fossil and nuclear DNA evidence. *J Hum Evol.* 48:237-57.
- Rakic P. (1972) Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex. *J Comp Neurol.* 145(1):61-83.
- Rakic P. (1976) Prenatal genesis of connections subserving ocular dominance in the rhesus monkey. *Nature.* 261(5560):467-71.
- Rakic P. (1977) Genesis of the dorsal lateral geniculate nucleus in the rhesus monkey: Site and time of origin, kinetics of proliferation, routes of migration and pattern of distribution of neurons. *J Comp Neurol.* 176(1):23-52.

- Rakic P. (1991) Plasticity of cortical development. Dans: Plasticity of development. Éditeurs: Brauth SE, Hall WS & Dooling RJ, MIT Press, Cambridge, p.127-162.
- Raleigh MJ, Brammer GL, McGuire MT & Pollack DB. (1992) Individual differences in basal cisternal cerebrospinal fluid 5-HIAA and HVA in monkeys: The effects of gender, age, physical characteristics, and matrilineal influences. *Neuropsychopharmacology*. 7:295-304.
- Redila VA, Olson AK, Swann SE, Mohades G, Webber AJ, Weinberg J & Christie BR. (2006) Hippocampal cell proliferation is reduced following prenatal ethanol exposure but can be rescued with voluntary exercise. *Hippocampus* 16(3):305-11.
- Riley EP & McGee CL. (2005) Fetal alcohol spectrum disorders: an overview with emphasis on changes in brain and behavior. *Exp Biol Med (Maywood)*. 230(6):357-65.
- Rodieck RW. (2003) *La vision*. 1re édition. Traduction de la 1re édition américaine par Françoise Koenig-Supiot et Olivier Thoumine. De Boeck Université, Bruxelles, 562p.
- Sampson P, Streissguth A, Bookstein F, Little R, Clarren S, Dehaene P, Hanson JW & Graham JM Jr. (1997) Incidence of fetal alcohol syndrome and prevalence of alcohol-related neurodevelopmental disorder. *Teratology*. 56(5):317-26.
- Sereno AB. (1992) Programming saccades: the role of attention. In: Rayner K, ed. Eye movements and visual cognition: Scene perception and reading. New York: Springer-Verlag. p.89-107.
- Shatz CJ, Ghosh A, McConnell SK, Allendoerfer KL, Friauf E & Antonini A. (1990) Pioneer neurons and target selection in cerebral cortical development. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 55:469-80.
- Simos PG. (2002) *Vision in the brain : Organization and plasticity in the visual system.*, Sweets & Zeitlinger B.V., Lisse, 220p.
- Sincich LC & Horton JC. (2002) Divided by cytochrome oxidase: a map of the projections from V1 to V2 in macaques. *Science*. 295(5560):1734-7.
- Sincich LC, Park KF, Wohlgemuth MJ & Horton JC. (2004) Bypassing V1: a direct geniculate input to area MT. *Nat Neurosci*. 7(10):1123-8.

- Sincich LC & Horton JC. (2005) The circuitry of V1 and V2: integration of color, form, and motion. *Annu Rev Neurosci.* 28:303-26.
- Snyder LH, Grieve KL, Brochie P & Andersen RA. (1998) Separate body- and world-referenced representations of visual space in parietal cortex. *Nature.* 394(6696):887-91.
- Spadoni AD, McGee CL, Fryer SL & Riley EP. (2007) Neuroimaging and fetal alcohol spectrum disorders. *Neurosci Biobehav Rev.* 31:239-45.
- Squire LR. (2008) *Fundamental Neuroscience*, 3e édition, Édité par: LR Squire, D Berg, F Bloom, S du Lac, A Ghosh & N Spitzer. Academic Press/Elsevier Science, Amsterdam, 1256p.
- Stanley OH. (1991) Cortical development and visual function. *Eye.* 5(Pt1):27-30.
- Steinman BA, Steinman SB & Lehmkuhle S. (1997) Transient visual attention is dominated by the magnocellular stream. *Vision Res.*37(1):17-23.
- Steinman SB & Steinman BA. (1998) Vision and attention. I: Current models of visual attention. *Optom Vis Sci.*75(2):146-55.
- Steinman SB, Steinman BA & Garzia RP. (1998) Vision and attention. II: Is visual attention a mechanism through which a deficient magnocellular pathway might cause reading disability? *Optom Vis Sci.*75(9):674-81.
- Steinmetz MA, Connor CE, Constantinidis C & McLaughlin JR. (1994) Covert attention suppresses neuronal responses in area 7a of the posterior parietal cortex. *J Neurophysiol.* 72(2):1020-3.
- Straiker A, Stella N, Piomelli D, Mackie K, Karten HJ & Maguire G. (1999) Cannabinoid CB1 receptors and ligands in vertebrate retina: localization and function of an endogenous signaling system. *PNAS.* 96(25):14565-70.
- Stratton K, Howe C & Battaglia F. (1996) *Fetal Alcohol Syndrome: Diagnosis, epidemiology, prevention, and treatment.* National Academy Press, Washington D.C., 213p.
- Strömmland K & Pinazo-Durán MD. (2002) Ophthalmic involvement in the fetal alcohol syndrome: clinical and animal model studies. *Alcohol Alcohol.* 37(1):2-8.
- Tanaka K. (1993) Neuronal mechanisms of object recognition. *Science.* 262(5134):685-8.

- Tenkova T, Young C, Dikranian K, Labruyere J, Olney JW. (2003) Ethanol-induced apoptosis in the developing visual system during synaptogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 44(7):2809-17.
- Ts'o DY, Roe AW & Gilbert CD. (2001) A hierarchy of the functional organization for color, form and disparity in primate visual area V2. *Vision Res.* 41(10-11):1333-49.
- Ungerleider LG & Mishkin M. (1982) Two cortical visual systems. Dans: *Analysis of visual Behavior*. Édition de: DJ Ingle, Goodale MA & Mansfield RJW, MIT Press, Cambridge, p.549-586.
- Vibert JF, Sébille A, Lavallard-Rousseau MC & Bourreau F. (2005) *Neurophysiologie : de la physiologie à l'exploration fonctionnelle*. Elsevier, Paris. 215p.
- Vinckenbosch E & Eliez S. (2004) L'IRM cérébrale: un outil pour la compréhension de la dyslexie de développement. *Enfance*.3 :311-22.
- Werblin FS & Dowling JE. (1969) Organization of the retina of the mudpuppy, *Necturus maculosus*. II. Intracellular recording. *J Neurophysiol.* 32(3):339-55.
- West MJ & Gundersen HJ. (1990) Unbiased stereological estimation of the number of neurons in the human hippocampus. *J Comp Neurol.* 296(1):1-22.
- Whitcher LT & Klintsova AY. (2008) Postnatal binge-like alcohol exposure reduces spine density without affecting dendritic morphology in rat mPFC. *Synapse.* 62(8): 566-73.
- Whitehead PF & Jolly CJ. (2000) *Old world monkeys*. Cambridge University Press., Cambridge, 528p.
- Williams RW & Rakic P. (1988) Elimination of neurons from the rhesus monkey's lateral geniculate nucleus during development. *J Comp Neurol.* 272(3):424-36.
- Wilson JR. (1989) Synaptic organization of individual neurons in the macaque lateral geniculate nucleus. *Journal of Neuroscience.* 9(8):2931-53.
- Wilson DE & Reeder DM. (2005) *Mammal species of the world: A taxonomic and geographic reference*. 3e édition. Volume 1. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 743p.

- Xiao Y & Felleman DJ. (2004) Projections from primary visual cortex to cytochrome oxidase thin stripes and interstripes of macaque visual area 2. *PNAS*. 101(18):7147-51.
- Yuodelis C & Hendrickson A. (1986) A qualitative and quantitative analysis of the human fovea during development. *Vision Res.* 26(6):847-55.
- Zabouri N, Bouchard JF & Casanova C. (2008) Retinal development: Expression of the cannabinoid receptor type 1 (CB1) and the enzyme FAAH in the rat retina. 2nd Annual Canadian Neuroscience Meeting. Montréal, Canada.
- Zeki SM. (1978) Functional specialisation in the visual cortex of the rhesus monkey. *Nature*. 274(5670): 423-8.
- Zeki S & Shipp S. (1998) The functional logic of cortical connections. *Nature*. 335(6188): 109-39.
- Ziegler TE & Bercovitch FB. (1990) *Socioendocrinology of Primate Reproduction*. Wiley-Liss, New York, 217p.